Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Bisdesoxydihydromonotropein - ein Iridoid aus Physostegia virginiana (L.) Benth. var. virginiana und var. speciosa (Sweet) Gray

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Lorenz Freiherr von Lehmann
aus Berlin

1970

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Bisdesoxydihydromonotropein - ein Iridoid aus Physostegia virginiana (L.) Benth. var. virginiana und var. speciosa (Sweet) Gray

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernd-Lorenz Freiherr von Lehmann
aus Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent : Professor Dr. R. Hänsel

Korreferent : Professor Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung : 29. JAN. 1970

Tag der Promotion: 16. MRZ. 1970

Meiner Frau

und meinen Eltern

gewidmet

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel durchgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. Hänsel, möchte ich an dieser Stelle für seine wohlwollende Förderung, für zahlreiche, wertvolle Ratschläge sowie für das grosse Interesse danken, das er meiner Arbeit entgegenbrachte.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. H. Rimpler am Pharmakognostischen Institut der Freien Universität Berlin, der wertvolle Anregungen für die vorliegende Arbeit gab und mir stets mit Rat und Auskünften behilflich war.

Herrn Dr. Ch. Leuckert, Akademischer Rat am Institut für Systematische Botanik und Pflanzengeographie, möchte ich herzlich für seine Ratschläge danken.

Den Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie, vor allem Fräulein J. Schulz und Herrn W. Bähr danke ich für das Zeichnen und Fotografieren der Formeln und Spektren. Fräulein H. Pofahl möchte ich für die vielen Ratschläge während meiner Labortätigkeit danken.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0060

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung und Problemstellung	8
II	Botanische Beschreibung der untersuchten Pflanzen	10
	1. Physostegia virginiana (L.) Benth. var. virginiana	11
	2. Physostegia virginiana (L.) Benth. var. speciosa (Sweet) Gray	11
III	Bisher durchgeführte Untersuchungen an Physostegia virginiana (L.) Benth.	13
IV	Die biosynthetische Bedeutung des cyclopentanoiden Monoterpens	16
V	Eigene Untersuchungen	29
	A. Hauptteil	29
	1. Chemische und chromatographische Voruntersuchungen	30
	1.1. Untersuchungen mit dem Reagenz nach Trimm und Hill	30
	1.2. Auswertung der Chromatogramme	31
	2. Die Isolierung eines Iridoids aus den Blättern und Wurzeln von Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa	33
	2.1. Allgemeines	33
	2.2. Isolierung der Verbindung P_A	33
	2.3. Darstellung von Derivaten	36
	2.3.1. Methylierung der Verbindung P_A	36
	2.3.2. Acetylierung der Verbindung P_B	36

2.4. Identifizierung der Verbindung P_A 37
2.4.1. Allgemeines 37
2.4.2. UV-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C 37
2.4.3. IR-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C 40
2.4.4. NMR-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C 46
2.4.5. Massen-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C 57
2.5. Stereochemie der Verbindung P_A 63
3. Isolierung und Charakterisierung der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F 66

B. Experimenteller Teil 70
Allgemeines 71
1. Chemische und chromatographische Voruntersuchungen 72
1.1. Untersuchungen mit dem Reagenz nach Trimm und Hill 72
1.2. Anfertigung der Chromatogramme 72
2. Die Isolierung von Bisdesoxydihydromonotropein aus Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa 74
2.1. Darstellung von Derivaten 76
2.1.1. Methylierung des Bisdesoxydihydromonotropeins 76
2.1.2. Acetylierung des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters 78
3. Isolierung und Charakterisierung der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F. 81

4. Enzymatische Hydrolyse des Bisdesoxy-dihydromonotropeinmethylesters 82

5. Enzymatische Hydrolyse der Verbindung P_E 83

VI Diskussion 84

VII Zusammenfassung 85

VIII Literaturverzeichnis 86

IX Lebenslauf 92

I. Einleitung und Problemstellung

Iridoide sind - meist glykosidisch gebundene - Monoterpene, die ein biogenetisch einheitliches, charakteristisches Bauprinzip aufweisen. Der Grundtyp (1) und die häufigsten Varianten (2,3) des Kohlenstoffskeletts sind in Abbildung 1 zusammengestellt:

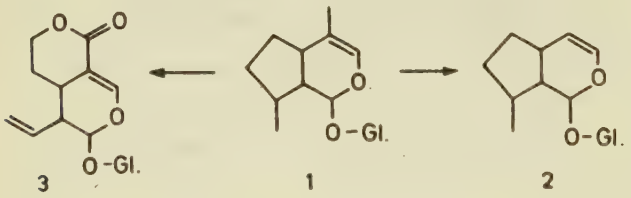


Abb. 1

Das Vorkommen dieser Stoffe im Pflanzenreich ist anscheinend auf bestimmte Verwandtschaftskreise beschränkt. Vor allem Hegenauer [45] hat auf die chemotaxonomische Bedeutung der Iridoide hingewiesen und die Verbreitung der gesamten Stoffgruppe bei der Diskussion phylogenetischer Beziehungen zwischen grösseren Pflanzensippen - etwa bei der Ableitung der Sympetalae - herangezogen. Untersuchungen über die Verbreitung von Iridoiden in einer grossen Zahl von Familien sind 1959 von Winde [91] und von Wieffering [89] durchgeführt worden. Sie hofften, " neue Anhaltspunkte für die Gliederung von Arten in Genera und von Genera in Familien " zu finden. Bei diesen vorwiegend chromatographischen Untersuchungen konnten nicht alle nachgewiesenen Iridoide identifiziert werden.

Bei den Labiaten beschrieb Winde [91] ein sporadisches Auftreten dieser Verbindungen. Nur in den Gattungen

Scutellaria und Physostegia konnten sie nachgewiesen werden. Der halbquantitative Nachweis von Iridoiden mit dem Reagenz nach A.R. Trimm und R. Hill [84] ergab eine als " stark " bezeichnete Reaktion. Die papierchromatographischen Untersuchungen wiesen auf das Vorkommen mehrerer Iridoide in Physostegia virginiana hin. Da diese Verbindungen anscheinend nicht bekannt waren, versuchten wir, sie zu isolieren und näher zu charakterisieren.

I. Botanische Beschreibung der untersuchten Pflanzen

Obwohl Bentham [17] der Pflanze schon I876 den Gattungsnamen Physostegia gab, war ihre systematische Zuordnung nicht immer einheitlich.In der " New Britton and Brown Flora " [36] wird sie als Dracocephalum virginianum L. beschrieben.Der " Index Kewensis " nennt sie zwar Physostegia, weist jedoch bei einigen Arten auf den Gattungsnamen Dracocephalum als Synonym hin.Hegi [46] ist der Ansicht, dass Physostegia (L.) Benth. eine Mittelstellung zwischen den Gattungen Dracocephalum und Melittis einnimmt.

Die Gattung Physostegia wird der Unterfamilie der Stachoideae in der Familie der Labiatae zugeordnet [37]. Sie umfasst etwa 30 Arten, die in den Vereinigten Staaten und Kanada beheimatet sind.Die sehr dekorative, ausläufertreibende Staude wurde im I7. Jahrhundert nach Europa gebracht und in mehreren Gartenformen kultiviert.Vor einiger Zeit wurde jedoch von Tosco [83] berichtet, dass eine wild wachsende Varietät von Physostegia virginiana (L.) Benth. in der Nähe von Turin gefunden wurde.

Der Name Physostegia kommt aus dem Griechischen (physa = die Blase ; stege = die Decke) und bezieht sich auf den Kelch, der während der Fruchtzeit im Ganzen etwas aufgeblasen erscheint [39].Er ist undeutlich zehnnervig und kurz röhren- oder glockenförmig.Die Krone ist trichterförmig mit einem sehr aufgeblasenen, zweilippigen Schlund.Die Oberlippe steht fast ganz aufrecht;sie ist schwach konkav und ungeteilt.Die Unterlippe ist dreigeteilt, schmal und ausgebreitet;der Mittellappen ist grösser,breit, abgerundet und ein wenig gekerbt.Die Staubblätter sind paarweise genähert mit getrennten, parallelen Fächern. Der Diskus ist zu einem grossen, den Fruchtknoten überragenden Nektarium ausgebildet.Die Nüsschen sind scharf und mehr oder weniger tetraedrisch, am Gipfel abgerundet und glatt.

Physostegia virginiana ist eine unbehaarte, ausdauernde Staude mit rutenförmigem Stengel und sitzenden linear-lanzettlichen oder länglichen, meist gezähnten Blättern.Die grossen, leuchtenden Blüten sind rosa oder fleischfarben mit purpurnen Flecken und gegenständig angeordnet.Sie stehen einzeln oder zusammengedrängt in einfachen oder rispenförmigen, terminalen, blattlosen Ähren.

Die beiden in dieser Arbeit untersuchten Varietäten sind:

1. Physostegia virginiana (L.) Benth. var. virginiana

Der völlig kahle Stengel ist 40 bis 150 cm hoch und einfach oder rispenförmig verzweigt und zugespitzt. Die Blätter sind ein wenig häutig bis hart, lanzettlich, oft scharf gezähnt, 4 bis 12 cm lang und 1 bis 2,5 cm breit; die obersten sind stark reduziert.Die rutenförmige Ähre (bzw. rispenförmige Ähre) weist gedrängt stehende Blüten auf; während der Fruchtzeit ist der Kelch verlängert; die Ähren sind etwa 6 bis 20 cm lang.Der Kelch ist trichter- bis glockenförmig mit scharfen, kurzen, dreieckigen Zähnen, drüsig-klebrig und im allgemeinen schwach behaart.Die Korolle ist purpur oder rosa, selten weiss und 2 bis 3 cm lang. Die Pflanze wächst an Flussufern und auf unbebautem Land in den amerikanischen Staaten: Minnesota, New England, Delaware, North Carolina, Tennessee und Montana.Die Blütezeit ist Juni bis September.

2. Physostegia virginiana (L.) Benth. var. speciosa (Sweet) Gray

Die Blätter sind scharf gezahnt, breit, lanzettlich oder umgekehrt lanzettlich bis länglich und 2 bis 4 cm breit.Sie sind allmählich, manchmal nur

geringfügig zur Spitze des Stengels hin reduziert.
Der Kelch weist wenig oder gar keine Drüsen auf.
Die Verbreitungsgebiete sind vor allem die amerikanischen Staaten : Oregon, Montana, North Dakota, Minnesota, Wisconsin, Tennessee, Louisiana und Iowa.Die Blütezeit ist Juni bis September.

III. Bisher durchgeführte Untersuchungen an Physostegia virginiana (L.) Benth.

Über pflanzenchemische Untersuchungen an Physostegia virginiana (L.) Benth. ist bisher nichts bekannt; das ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass diese Gattung keine pharmakologische Wirkung zeigte und in der Volksmedizin keine Verwendung fand.Die eingangs schon erwähnte Arbeit [91] ist die einzige, die mit chemischen und chromatographischen Methoden auf das Vorhandensein von Inhaltsstoffen (Iridoide) hingewiesen hatte.

Auch die botanische Literatur erwähnt die Pflanze nur selten; 1933 berichtet Müller [70] über den Bau und die Entwicklung des Bewegungsmechanismus von Physostegia virginiana : die Blüten haben die Fähigkeit sich zu drehen. Sie können sich sowohl nach rechts als auch nach links bewegen und dann in dieser Stellung bleiben.Experimente zeigten, dass sie diese Fähigkeit zu Beginn der Fruchtzeit verlieren.

1945 veröffentlichte Jenkins [59] eine Arbeit über das Vorkommen von Mycospaerella virginiana auf den Blättern von Physostegia virginiana.

In einer Untersuchung über die Chromosomenzahl einiger kanadischer Pflanzen gab ein Arbeitsteam [81] 1967 für die Gattung Physostegia die Zahl $n = 19$ an.

Im Jahre 1966 veröffentlichte Boivin [20] eine Arbeit, die die Varietäten von Physostegia virginiana (L.) Benth. beschreibt.Er gibt acht Varietäten und zwei Formen an :

Physostegia virginiana (L.) Benth.

1. var. virginiana Benth.
   a. f. candida Benke
2. var. speciosa (Sweet) Gray
3. var. reducta Boivin
4. var. elongata Boivin
5. var. granulosa (Fasett) Fern.
6. var. formosior (Lunell) Boivin
   a. f. alba (J.W. Moore) Boivin
7. var. Ledinghamii Boivin
8. var. parviflora (Nutt.) Boivin

Abb. 2

IV. Die biosynthetische Bedeutung des cyclopentanoiden Monoterpens

Unter Iridoiden versteht man Pflanzeninhaltsstoffe, deren Grundkörper aus zehn C-Atomen (Monoterpen) besteht. Die Biosynthese dieses Stoffes verläuft über folgende Zwischenstufen :

Drei Moleküle aktivierte Essigsäure (Acetyl-CoA) bilden zunächst die β-Hydroxy - β - methylglutarsäure, die durch Reduktion in die Mevalonsäure überführt wird. Nach der Abspaltung von Kohlendioxyd und Wasser entsteht das aktive Isopren (Isopentenylpyrophosphat) [60]. Durch eine Kopf-Schwanz (4 - 1') Verknüpfung zweier Isopren-Bausteine ensteht das Geranylpyrophosphat [43]. Versuche mit radioaktiv markierter Mevalonsäure (bzw. Essigsäure) bestätigten diese Theorie und ergaben den entsprechend markierten Geraniol - Typ (s. Abb. 4) [4,41,61,82]. Weiterhin konnte der Ringschluss zum Cyclopentan - Typ bewiesen werden : Die C-Atome C-3 und C-7 waren eine Bindung miteinander eingegangen [5,9,10,24,31,44]. Überraschenderweise stellte man gleichzeitig fest, dass die Radioaktivität einer der beiden 2 - ^{14}C Mevalonsäuren zu gleichen Teilen auf zwei C-Atome (C-1 und C-9) verteilt wurden [31,41,48,54,92]. Die Autoren sind der Ansicht, dass bei der Biosynthese ein Zwischenprodukt (1) auftritt, dessen C-Atome C-1 und C-9 vollkommen äquivalent sind:

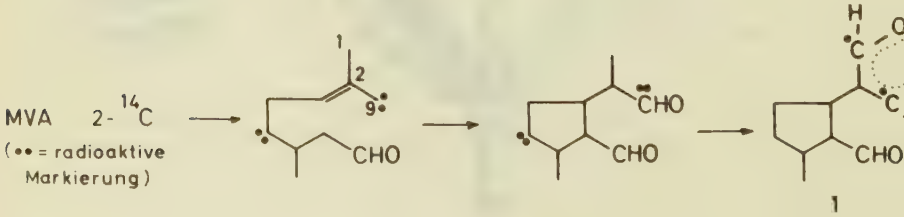
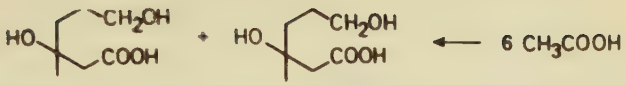
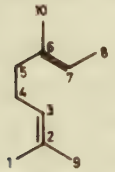


Abb. 3

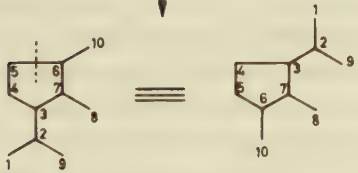


MEVALONSÄURE

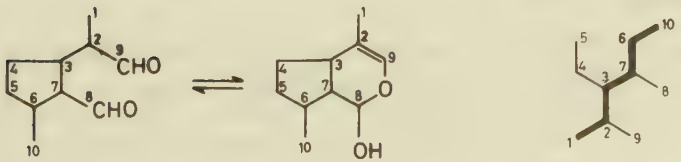
"ISOPREN"



GERANIOL-TYP



CYCLOPENTAN-TYP



IRIDODIAL ENOL HALBACETAL ÄDMH-TYP

R. Thomas [82] und E. Wenkert [88] stellten Anfang dieses Jahrzehnts die Hypothese auf, dass der Cyclopentan - Typ durch die Öffnung des Ringes an den C-Atomen C-5 und C-6 in einen azyklischen C_{10} -Körper übergeht. Radioaktive Fütterungsversuche bestätigten dies und zeigten, dass das azyklische Monoterpen sich von dem Kohlenstoffskelett des 3 - Äthyl - 2,6 - Dimethylhexans ableitet (ÄDMH - Typ) [4,31,43,62,64]

Die iridoiden Pflanzeninhaltsstoffe lassen sich in zwei Gruppen einordnen [45], die sich auf den Cyclopentan - Typ zurückführen lassen :

1. in die vom Iridodial sich ableitenden
   a. wasserdampfflüchtigen Verbindungen vom Typ des Nepetalaktons (s. Abb. 5)
   b. Enolhalbacetale und Enolhalbacetalglykoside einschliesslich des Plumierid - Typs (s. Abb. 6)
   c. alkaloidartigen Derivate vom Typ des Skythantins (s. Abb. 5)

2. in die vom ÄDMH - Typ sich ableitenden
   a. Secoiridoidglykoside, die auch N-haltige Verbindungen desselben Kohlenstoffskeletts einschliessen (s. Abb. 11)
   b. Alkaloide (Nicht-Amin-Anteil) (s. Abb. 8).

Die biogenetische Verwandtschaft des Nepetalaktons zum cyclopentanoiden Monoterpen wurde kürzlich bewiesen: Verbascum thapsus Pflanzen wurden mit 2 - ^{14}C Mevalonsäure gefüttert. Es konnte beobachtet werden, dass sich die Radioaktivität auf das Aucubin und das Nepetalakton verteilt hatte [68,71].

Die Vertreter der Enolhalbacetale und Enolhalbacetalglykoside lassen sich je nach Anzahl der C-Atome des Aglykons unterscheiden in den :

1. Verbenalin - Typ (C-10 Gerüst), einschliesslich des Plumierid - Typs
2. Aucubin - Typ (C-9 Gerüst)
3. Unedosid - Typ (C-8 Gerüst).Unedosid ist bisher der einzige Vertreter dieser Gruppe.

Die im Verbenalin- und Aucubin - Typ vorkommenden Variationen beschränken sich auf den Oxydationsgrad des C-Atoms C-10 (s. Abb. 6) , die Zahl und die Stellung der Sauerstoff-funktionen der C-Atome C-3 bis C-6 und das Vorhandensein einer Doppelbindung zwischen den C-Atomen C-5 und C-6, bzw. C-4 und C-5 (s. Abb. 7) [41,43] .In einer hypothetischen Biosynthesebetrachtung weist Hänsel [43] darauf hin, dass die Herkunft des Plumierid - Typs möglicherweise über eine Aldehydfunktion am C-Atom C-10 verläuft. Das aldehydische C-Atom könnte als elektrophile Komponente eine Aldolkondensation mit dem aktiven Methylen eines Acetoacetyl - CoA eingehen und so den Grundkörper des Plumierid-Typs bilden.Die Variation dieses Typs beschränkt sich auf den C_4 Rest.

Die Secoiridoidglykoside und die Nicht-Amin-Anteile einiger Alkaloide leiten sich vom Kohlenstoffskelett des ÄDMH - Typs ab. R. Thomas [82] synthetisierte 1961 aus dem Thujon ein Derivat, dessen Kohlenstoffskelett dem Corynanthe-Typ und aus dem Umbellulon eine Verbindung, die dem Kohlenstoffskelett des Aspidospermin - Typs glich.Die von ihm aufgestellte Hypothese, dass sich der Nicht-Amin-Anteil (C-9 bzw. C-10 Fragment) zahlreicher Indolalkaloide von einem Monoterpen mit ÄDMH - Gerüst ableitet, ist seitdem von einigen Arbeitsgruppen bestätigt worden.[3,4,5,13,30, 38,44,62,64] Fütterungsversuche mit radioaktiv markiertem Loganin führten zu den entsprechend markierten Indolalkaloiden.

Battersby und Mitarbeiter [6,9,10,15,16] , Loew und Mitarbeiter [65] und Brechbühler-Bader und Mitarbeiter [24] haben gezeigt, dass Loganin eine Vorstufe bei der Biosynthese der Indolalkaloide darstellt.Bei dieser Reaktion muss das Loganin durch Ringöffnung zwischen den C-Atomen C-5 und

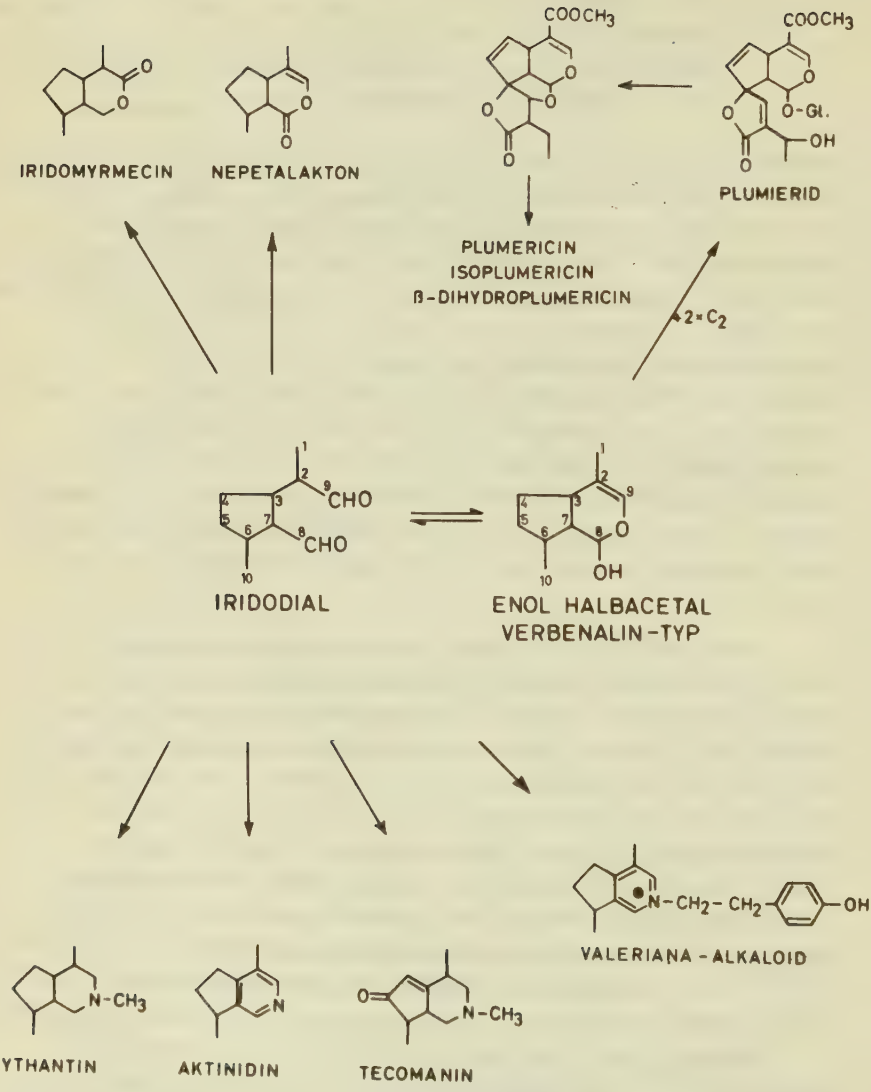
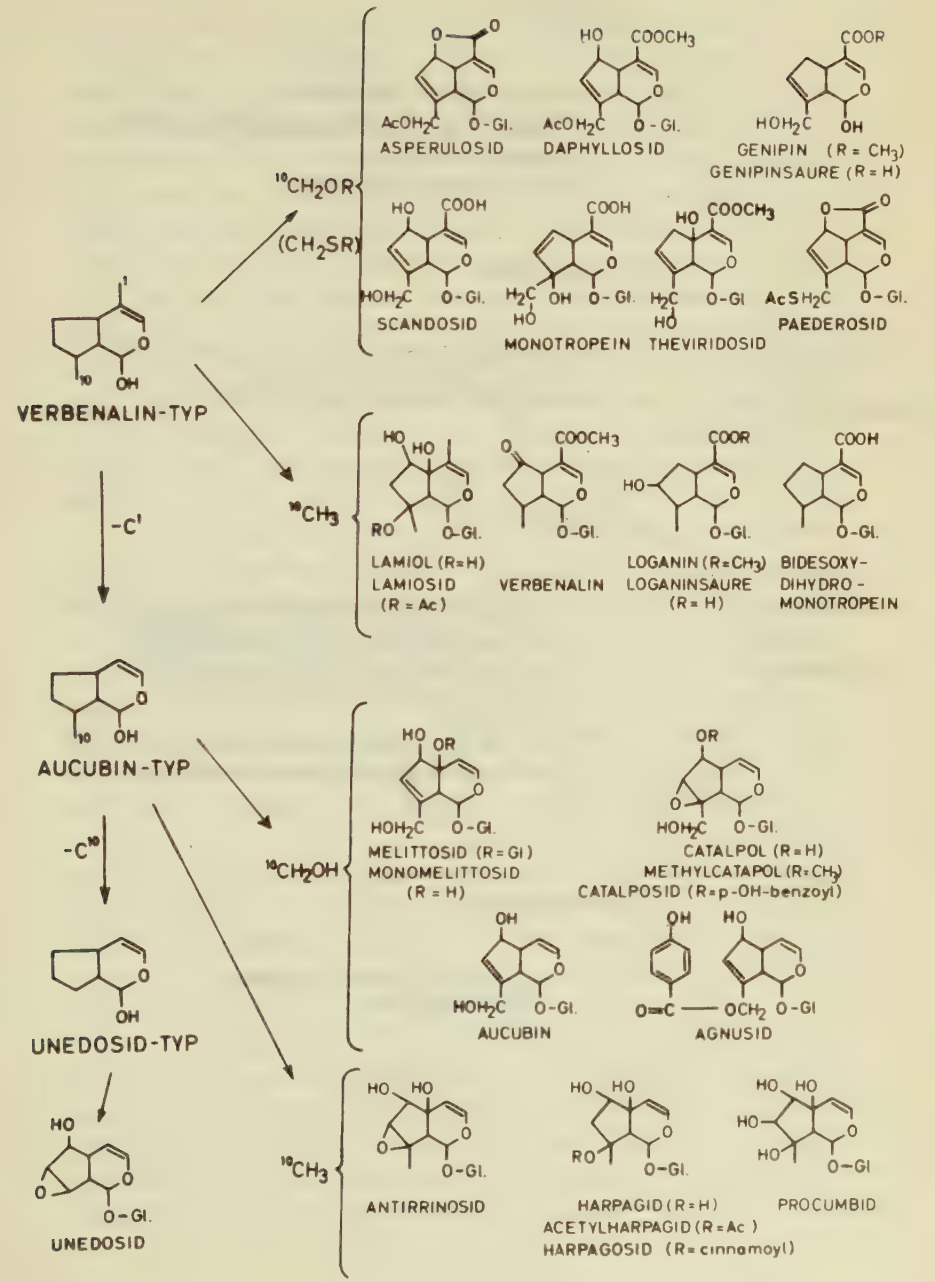

IRIDOMYRMECIN
NEPETALAKTON
COOCH3
PLUMERICIN
ISOPLUMERICIN
ß-DIHYDROPLUMERICIN
COOCH3
O-Gl.
OH
PLUMIERID
+2 x C2
CHO
CHO
IRIDODIAL
OH
ENOL HALBACETAL
VERBENALIN-TYP
N-CH3
SKYTHANTIN
N
AKTINIDIN
N-CH3
TECOMANIN
N-CH2-CH2
OH
VALERIANA-ALKALOID

Abb. 5


VERBENALIN-TYP
-C'
AUCUBIN-TYP
-C¹⁰
UNEDOSID-TYP
UNEDOSID
¹⁰CH₂OR
(CH₂SR)
¹⁰CH₃
¹⁰CH₂OH
¹⁰CH₃
ASPERULOSID
DAPHYLLOSID
GENIPIN (R = CH₃)
GENIPINSAURE (R = H)
SCANDOSID
MONOTROPEIN
THEVIRIDOSID
PAEDEROSID
LAMIOL (R=H)
LAMIOSID (R = Ac)
VERBENALIN
LOGANIN (R=CH₃)
LOGANINSAURE (R = H)
BIDESOXY-DIHYDRO-MONOTROPEIN
MELITTOSID (R=Gl)
MONOMELITTOSID (R = H)
CATALPOL (R=H)
METHYLCATALPOL (R=CH₃)
CATALPOSID (R=p-OH-benzoyl)
AUCUBIN
AGNUSID
ANTIRRINOSID
HARPAGID (R=H)
ACETYLHARPAGID (R=Ac)
HARPAGOSID (R=cinnamoyl)
PROCUMBID

O-FUNKTION AM:

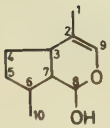
C_3: LAMIOL; LAMIOSID; THEVIRIDOSID

C_4: ASPERULOSID (LAKTON); DAPHYLLOSID, LAMIOL, LAMIOSID; SCANDOSID; VERBENALIN; PAEDEROSID (LAKTON)

C_5: LOGANIN; LOGANINSÄURE

C_6: LAMIOL; LAMIOSID; MONOTROPEIN

DOPPELBINDUNG :



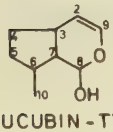
VERBENALIN - TYP

C_5-C_6: ASPERULOSID; DAPHYLLOSID, GENIPIN, GENIPINSÄURE; PAEDEROSID; SCANDOSID; THEVIRIDOSID

C_4-C_5: MONOTROPEIN; PLUMIERID; PLUMERICIN

$-C^1$

O-FUNKTION AM:



AUCUBIN - TYP

C_3: ANTIRRINOSID; PROCUMBID; MONOMELITTOSID; MELITTOSID; (ACETYL)-HARPAGID; HARPAGOSID

C_4: MELITTOSID, ANTIRRINOSID; AUCUBIN; CATALPOSID; (METHYL)-CATALPOL; (ACETYL)-HARPAGID; HARPAGOSID; MONOMELITTOSID; PROCUMBID;

C_5, C_6: PROCUMBID $\xrightarrow{\text{EPOXY}}$ ANTIRRINOSID; (METHYL)-CATALPOL; CATALPOSID; (ACETYL)-HARPAGID; PROCUMBID; HARPAGOSID;

DOPPELBINDUNG :

C_5 - C_6 : AGNUSID; AUCUBIN; MELITTOSID; MONOMELITTOSID

Abb. 7

C-6 in den Corynanthe - Typ übergegangen sein.Das auftretende Zwischenprodukt - das Secologanin - konnte vorerst nicht gefasst werden.Erst 1968 konnten Battersby und Mitarbeiter [12] aus Menthiafolin das Secologanin herstellen. Menthiafolin ist ein maskiertes Laktol der Secologaninsäure, die durch Methylierung in das Secologanin überführt werden kann.Kürzlich konnten Battersby und Mitarbeiter [16] das Secologanin auch als Naturprodukt aus Vinca rosea isolieren. Ein Fütterungsversuch mit radioaktiv markiertem Secologanin führte zu den entsprechend markierten Indolalkaloiden (Serpentin, Ajmalicin, Vindolin, Catharanthin und Perivin).[12] Auf Grund dieser Ergebnisse kommt Battersby 1969 zu der Folgerung,dass Secologanin von der Pflanze aus Loganin hergestellt wird und demnach eine spezifische Vorstufe bei der Biosynthese der Indolalkaloide darstellt [16] .

Inouye und Mitarbeiter[58] erhielten in einem Fütterungsversuch mit radioaktiv markiertem Swerosid aus Vinca rosea ebenfalls das entsprechend markierte Vindolin.Er beschreibt den Biosyntheseweg folgendermassen: " This work together with other incorporation studies mentioned above clarified that there must be a biosynthetic pathway of the indole alkaloids from mevalonic acid via geraniol, loganin, and swerosid (or its equivalent)." Das Secologanin kann ohne weiteres als Äquivalent des Swerosids angesehen werden (s. Abb. 10).Battersby [12] hält es sogar für wahrscheinlich, dass das Swerosid zunächst in das Secologanin umgeformt wird, bevor es in die Indolalkaloide eingebaut wird.Der Einbau des Swerosids in Vindolin widerspricht also nicht der Tatsache,dass Secologanin eine spezifische Vorstufe bei der Biosynthese der Indolalkaloide darstellt.

Die Spaltung zwischen den C-Atomen C-2 und C-3 und die anschliessende Verknüpfung der C-Atome C-9 an C-7 bzw. C-9 an C-4 ergeben Fragmente mit zehn Kohlenstoffatomen,die dem Aspidosperma - Typ bzw. dem Iboga - Typ entsprechen.Die Vertreter dieser Typen sind in Abbildung 8 schematisch dargestellt.

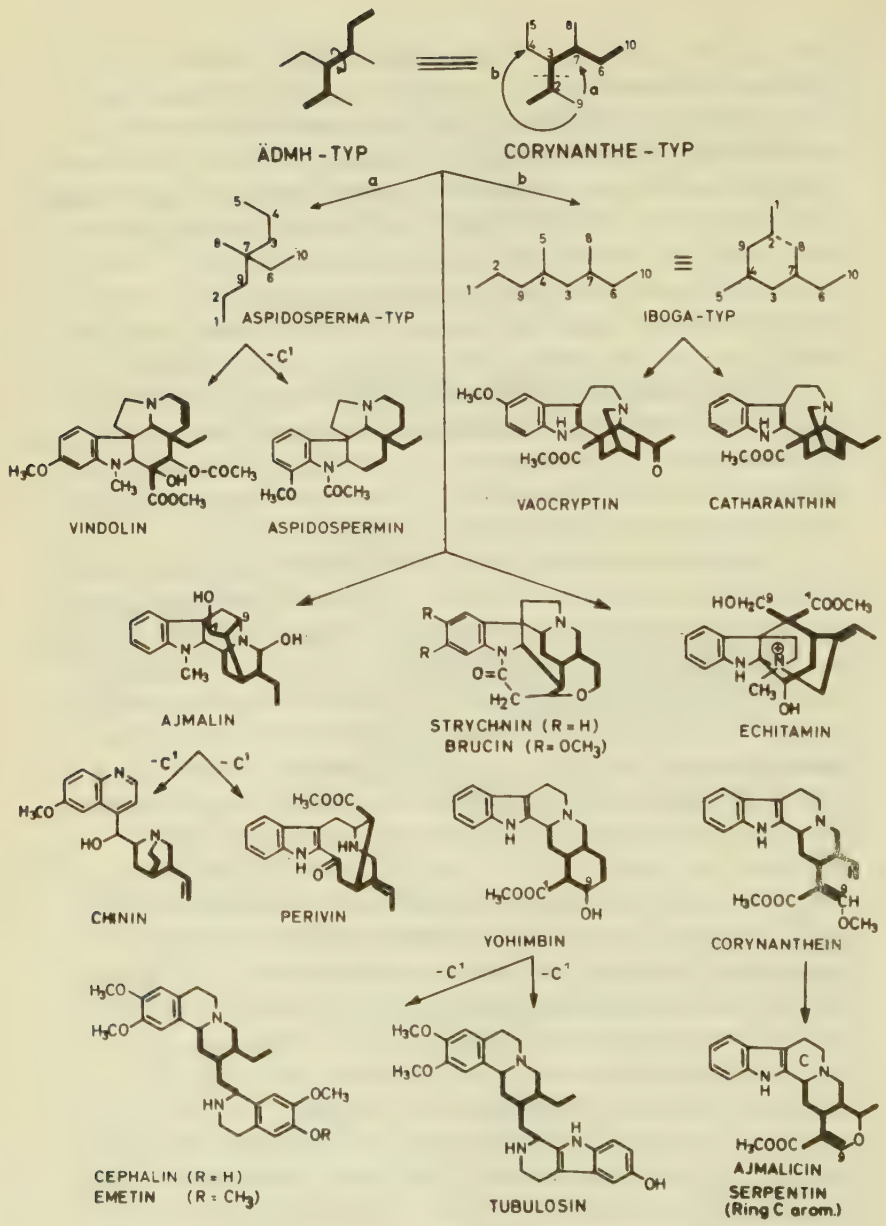
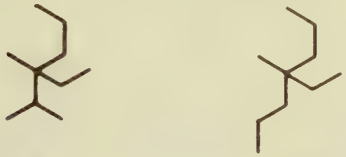

ÄDMH - TYP
CORYNANTHE - TYP
a
b
ASPIDOSPERMA - TYP
IBOGA - TYP
-C'
VINDOLIN
ASPIDOSPERMIN
VAOCRYPTIN
CATHARANTHIN
AJMALIN
STRYCHNIN (R = H)
BRUCIN (R = OCH3)
ECHITAMIN
CHININ
PERIVIN
YOHIMBIN
CORYNANTHEIN
CEPHALIN (R = H)
EMETIN (R = CH3)
TUBULOSIN
AJMALICIN
SERPENTIN
(Ring C arom.)

Abb. 8

Es gibt jedoch auch Alkaloide deren Nicht-Amin-Anteil (C-10 Fragment) sich nicht in die oben beschriebenen Schemata einordnen lassen. Fruticosin und Fruticosamin [7] weisen z.B. einen C_{10} Rest auf (2), der vom normalen Kohlenstoffskelett des Aspidosperma - Typs (3) abweicht :



2 3

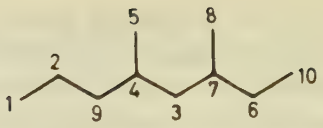
Abb. 9

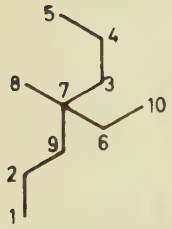
Ist auch die biogenetische Beziehung zum ÄDMH - Typ nicht bewiesen, so gibt es dennoch eine aus dem Umbellulon synthetisierte Verbindung, deren Kohlenstoffskelett dem Fragment 2 entspricht.[82]

Eine Sonderstellung nehmen einige Alkaloide der Gattung Catharantus ein. Vinblastin und Vincristin gehören biogenetisch zu den dimeren Indolbasen. In ihnen ist sowohl der Aspidosperma - Typ als auch der Iboga - Typ enthalten (s. Abb. 10).

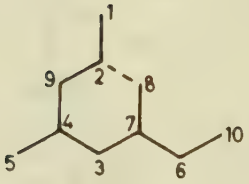
Der Biosyntheseweg des Swerosids und einiger verwandter Secoiridoid-Glykoside entspricht dem bereits beschriebenen Biosyntheseweg, der zur Bildung des Secologanins führt. Abbildung 11 verdeutlicht die Verwandtschaft des Secoiridoid-Typs mit dem ÄDMH - Typ.

Die Vielzahl an Pflanzeninhaltsstoffen, die sich vom cyclopentanoiden Monoterpen ableiten, weist auf die grosse Bedeutung hin, die diese Verbindung als Zwischenstufe bei der Synthese sekundärer Pflanzenstoffe darstellt.



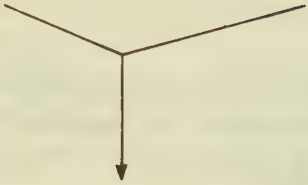


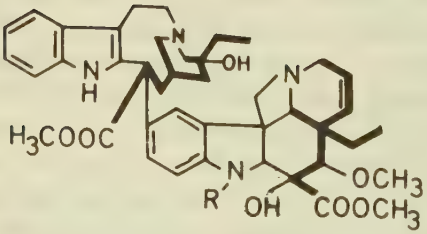
III



ASPIDOSPERMA - TYP

IBOGA - TYP





VINBLASTIN (R = CH_3)
VINCRISTIN (R = OCH_3)

Abb. 10

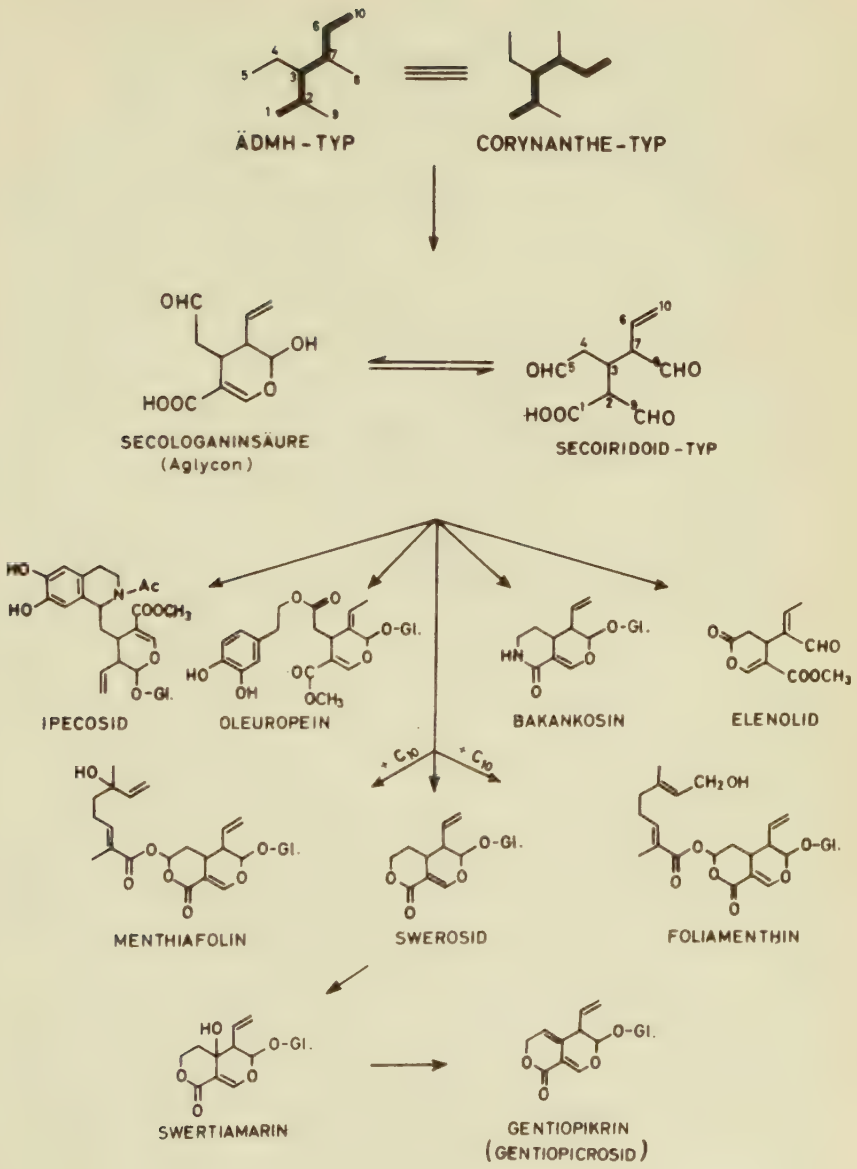

ÄDMH - TYP
CORYNANTHE - TYP
SECOLOGANINSÄURE
(Aglycon)
SECOIRIDOID - TYP
IPECOSID
OLEUROPEIN
BAKANKOSIN
ELENOLID
MENTHIAFOLIN
SWEROSID
FOLIAMENTHIN
SWERTIAMARIN
GENTIOPIKRIN
(GENTIOPICROSID)

Abb. 11

V. Eigene Untersuchungen

A. Hauptteil

1. Chemische und chromatographische Voruntersuchungen

Um ein Bild von der Verteilung der Iridoide in der Pflanze zu bekommen, wurden zunächst Wurzeln und Blätter getrennt aufgearbeitet.Da Winde [91] für Physostegia speciosa ein und für Physostegia virginiana drei unbekannte Iridoide papierchromatographisch nachgewiesen hatte, wurden auch in diesen Untersuchungen die Extrakte der beiden Varietäten verglichen.

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials :

Die Blätter und Wurzeln der beiden Varietäten von Physostegia virginiana wurden gepulvert und mit Methanol extrahiert.Nach Abdampfen des Lösungsmittels wurde die wässrige Lösung des Extrakts mit Chloroform ausgeschüttelt und die Wasserphase zur Trockne eingeengt.Die methanolische Lösung des Rückstands wurde für die Voruntersuchungen verwendet.

1.1. Untersuchungen mit dem Reagenz nach Trimm und Hill

Verschiedene Konzentrationen der methanolischen Lösungen wurden mit dem Reagenz nach Trimm und Hill [84] versetzt.Die dabei auftretenden Farbintensitäten wurden miteinander verglichen.Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt :

ml methanolische Lösung	Physostegia virginiana			
	Blätter		Wurzeln	
	var.virgin.	var.speciosa	var.virgin.	var.speciosa
0,01	+	+	++	++
0,03	++	++	+++	+++
0,05	+++	+++	++++	++++

Tab. 1

Tabelle 1 Fortsetzung :

\+ = hellblau
++ = kobaltblau
+++ = dunkelblau
++++ = blaugrün

Diese vergleichenden, halbquantitativen Untersuchungen zeigen, dass die Wurzeln der beiden Varietäten grössere Mengen an Iridoiden enthalten als die Blätter.

1.2. Auswertung der Chromatogramme

Hinsichtlich des quantitativen Vergleiches der zu untersuchenden methanolischen Lösungen zeigten die chromatographischen Versuche die gleichen Ergebnisse wie die Untersuchungen mit dem Reagenz nach Trimm und Hill.Die in den Wurzeln beider Varietäten enthaltenen Iridoide zeigten nach dem Besprühen eine intensivere Verfärbung als die der Blätter. In Tabelle 2 wird auf diesen Unterschied nicht mehr hingewiesen, jedoch werden in ihr die Rf-Werte der vorkommenden Verbindungen und die Farben, die diese Flecken nach der Behandlung mit den drei Sprühreagenzien zeigen, dargestellt.

Substanz (Arbeitsbezeichng.)	UV aktiv	Rf-Wert	Sprühreagenzien		
			Vanillin/H_2SO_4	$SbCl_3$	Ehrlich
M	+	0,67	rosa	—	blau
L	+	0,57	violett	grau	blau
K	+	0,48	hellrot	rot	—
I		0,35	rot	ocker	braun
H		0,28	grün	grün	—
G	+	0,23	braun	grau	braun
P_A	+	0,15	violett	braun	blau
P_D	+	0,09	violett	braun	blau

Tab. 2

Unsere chromatographischen Untersuchungen ergaben keinen Unterschied in den Inhaltsstoffen der beiden Varietäten von Physostegia virginiana.Sie stehen somit im Widerspruch zu den Ergebnissen, die Winde [91] in seiner Arbeit veröffentlichte.

Keine der im Chromatogramm sichtbar gewordenen Verbindungen wurde bisher isoliert und näher charakterisiert.Auf Grund ihrer Farbreaktionen mit den Sprühreagenzien nehmen wir jedoch an, dass einige der Stoffe Iridoide sind.

2. Die Isolierung eines Iridoids aus den Blättern und Wurzeln von Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa.

2.1. Allgemeines :

Der Trocknungsprozess ist gerade bei iridoidhaltigen Pflanzen ein wichtiger Vorgang.Wendet man eine falsche Methode an, so kann ein grosser Teil der gesuchten Verbindung durch Pflanzensäure und Fermente bereits hydrolysiert und polymerisiert sein, bevor man mit der Aufarbeitung beginnt;dunkelgrüne Blätter sind häufig ein Zeichen vorangegangener Zersetzung.Schnelles Trocknen, Unterbindung vom Enzymwirkung während der Extraktion und Vermeidung stark saurer Reaktion, wenn erwärmt werden muss, sind die wichtigsten Voraussetzungen, die Wieffering [89] für die Isolierung iridoider Pflanzenstoffe angibt.Wenn die frischen Pflanzenteile sofort nach der Ernte 20 Minuten lang auf 100° bis 110° erhitzt und anschliessend bei 80° getrocknet werden, bleiben die Iridoide in der Regel gut erhalten.Zur Unterbindung der Enzymwirkung während der Extraktion wird die trockene, gepulverte Droge in kochendes Äthanol gegeben und zur Neutralisation von Pflanzensäuren mit wenigen Gramm Kalziumkarbonat versetzt.

2.2. Isolierung der Verbindung P_A:

Die gepulverte Droge wird drei Mal mit Äthanol ausgekocht. Der Rückstand wird in möglichst wenig Methanol gelöst und an Celite adsorbiert.

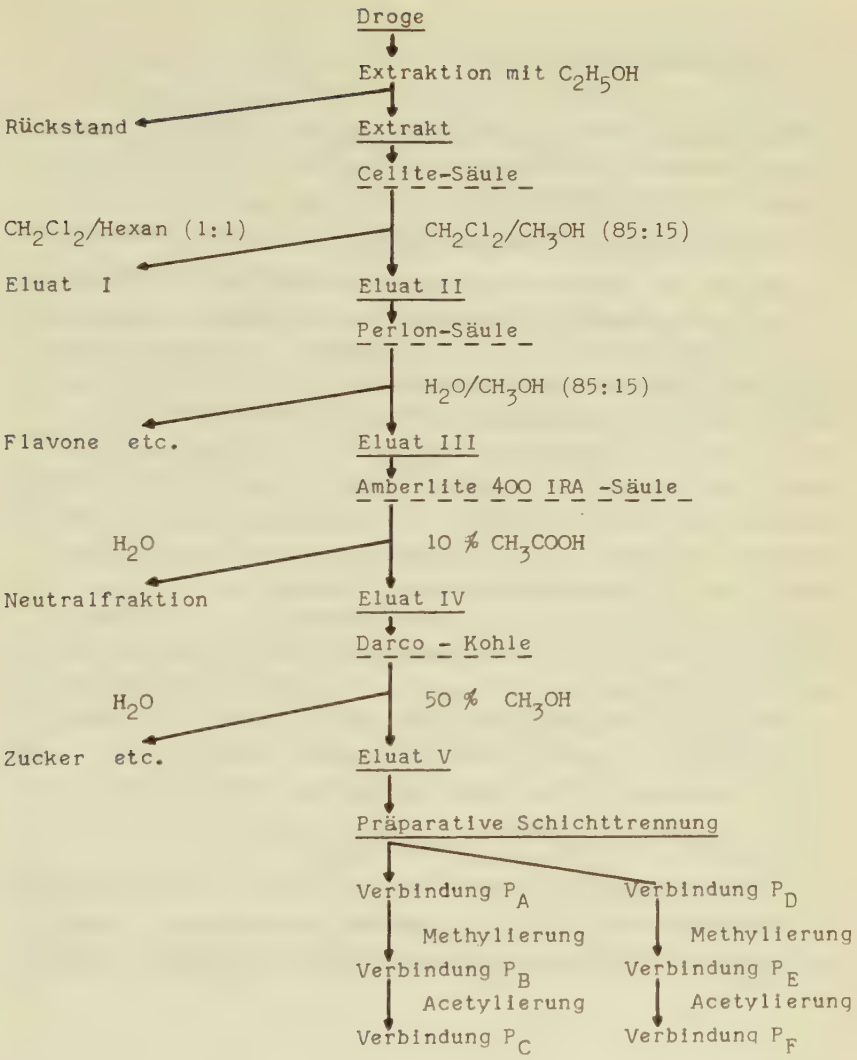
Celite - Säule: Das mit dem Extrakt beladene Celite wird auf eine Celite-Säule gebracht.Im Laufmittel Methylenchlorid/Hexan läuft das Chlorophyll sehr schnell durch, ohne dass die Iridoide mitlaufen (Eluat I).Nun eluiert man solange mit Methylenchlorid/Methanol, bis im Eluat keine Iridoide mehr nachzuweisen sind. (Eluat II)

Perlon-Säule : Der trockene Extrakt des Eluates II wird in 15 %igem Methanol gelöst und zur Abtrennung von Flavonen etc. auf eine Polyamidsäule gebracht. Im Laufmittel Wasser/Methanol laufen die Iridoide durch und ein Teil der Verunreinigungen bleibt am Polyamid adsorbiert.(Eluat III)

Ionenaustauscher-Säule : Der Rückstand des Eluates III wird in wässriger Lösung auf eine Anionenaustauscher-Säule gebracht.Es wird solange eluiert, bis alle Substanzen der neutralen Fraktion durchgelaufen sind.Mit 10 %iger Essigsäure werden anschliessend die sauren Verbindungen eluiert.(Eluat IV)

Reinigung an Kohle : Die essigsaure Lösung wird nun mit Darco-Kohle behandelt.Im wässrigen Durchlauf erscheinen die restlichen Verunreinigungen (Zucker und Essigsäure); mit 50 %igem Methanol werden die Iridoide dann eluiert. (Eluat V)

Präparative Schichtchromatographie : Erst jetzt, nach dem Entfernen der Verunreinigungen sieht man auf dem Chromatogramm zwei Stoffe.Sie scheinen sehr ähnlich zu sein, denn die Rf-Werte sind bei einmaligem Entwickeln in Chloroform/Methanol sehr dicht beieinander.Erst durch mehrmaliges Entwickeln ergibt sich ein deutlicher Unterschied der Rf-Werte, der auf die präparative Schichttrennung übertragen werden kann.Nach erfolgter Trennung erhält man Kristalle vom Schmelzpunkt 113° bis 115° ; die Verbindung erhielt die Arbeitsbezeichnung P_A .



Tab. 3

Schematische Darstellung des Trennungsganges bei der Isolierung der Verbindungen P_A und P_D aus den Blättern und Wurzeln von Physostegia virginiana var. virginiana und speciosa.

2.3. Darstellung von Derivaten

Da das freie Glykosid nicht gut und nur in geringer Ausbeute kristallisierte, stellten wir solche Derivate her, die durch andere Löslichkeitseigenschaften ein leichteres Umkristallisieren ermöglichten.

2.3.1. Methylierung der Verbindung P_A:

Bei der Darstellung des Methylproduktes der Verbindung P_A geht man zweckmässigerweise von dem noch nicht aufgetrennten Iridoidgemisch aus (s. Eluat V).Das geschieht aus folgendem Grund: selbst bei mehrmaligem Entwickeln sind die Unterschiede der Rf-Werte der beiden sauren Verbindungen so gering, dass sie teilweise übereinander liegen.Man erhält deshalb zunächst bei der Schichttrennung niemals einen reinen Stoff.Erst durch häufiges Umkristallisieren und dementsprechend hohem Verlust lässt sich die Substanz reinigen.Die Methylprodukte des Iridoidgemisches bieten dagegen den Vorteil, durch andere Rf-Werte eine bessere Trennung zu ermöglichen. Sie lassen sich im Laufmittel Benzol/Azeton leicht trennen. Aus Tetrahydrofuran/Hexan lässt sich das Methylprodukt der Verbindung P_A gut umkristallisieren.Die länglichen, rechteckigen Kristalle haben einen Schmelzpunkt von 157° bis 157,5° und erhielten die Arbeitsbezeichnung P_E.

2.3.2. Acetylierung der Verbindung P_B:

Die Verbindung P_B wird in Pyridin gelöst und mit Essigsäureanhydrid acetyliert.Die Verbindung P_C kristallisierte aus Tetrahydrofuran/Hexan mit einem Schmelzpunkt von 100° bis 102° .

2.4. Identifizierung der Verbindung P_A

2.4.1. Allgemeines

Da bei der Isolierung der Verbindung P_A ein Anionenaustauscher benutzt worden ist, muss eine der funktionellen Gruppen eine stark saure, wahrscheinlich sogar eine Carboxyl-Gruppe sein. Auch die spontan verlaufende Methylierung spricht für diese Überlegung.

Charakterisierung durch spektroskopische Methoden:

2.4.2. UV-Spektren

Die Absorptionsmaxima und die Extinktionswerte der UV-Spektren der Verbindungen P_A , P_B , P_C (s. Tab. 4) lassen darauf schliessen, dass der Chromophor

$$RO - CO - C = C - OR'$$

in diesen Molekülen vorhanden ist.

Verbindung	λ Max.	ϵ	log ϵ	Lösungsmittel
P_A	231 nm	9850	3.99344	Wasser
P_B	236 nm	10710	4.02979	Methanol
P_C	236 nm	11580	4.06371	Methanol

Tab. 4

UV-Maxima und Extinktionswerte der Verbindungen P_A, P_B und P_C

Die Vergleichswerte einiger cyclopentanoider Iridoide mit einer Carboxylfunktion am C-Atom C-4 stimmen mit diesen Werten gut überein und werden in Tabelle 5 und 6 dargestellt.

	λ Max.	ϵ	ϵ log	Lösungsmittel
Verbindung P_A	231 nm	9850	3.99344	Wasser
Loganinsäure [19,32]	230 nm	15860	4.2	Äthanol
Monotropein [49,50]	235 nm	9550	3.98	Äthanol
Paederosidsäure [56]	233 nm	9550	3.9	
Scandosid [56]	235 nm	14450	4.16	

Tab. 5

UV-Maximum und Extinktionswert der Verbindung P_A im Vergleich mit denen anderer, saurer Iridoid-Glykoside.

	λ Max.	ϵ	ϵ log	Lösungsmittel
Verbindung P_B	236 nm	10710	4.02979	Methanol
Asperulosid [25,26]	234 nm	6800	3.83	Äthanol

Tab. 6

Tabelle 6 Fortsetzung :

	λ Max.	ε	log ε	Lösungsmittel
Daphyllosid [53]	235 nm	8920	3.95	
Genipin [33]	240 nm	13180	4.12	Chloroform
Paederosid [56]	235 nm	10710	4.02	
Loganin [8,19,57,77]	236 nm	10940	4.04	Äthanol
Verbenalin [28,29]	238 nm	9600	3.982	Äthanol

Tab. 6

UV-Maximum und Extinktionswert der Verbindung P_B im Vergleich mit denen ähnlicher Iridoid-Glykoside.

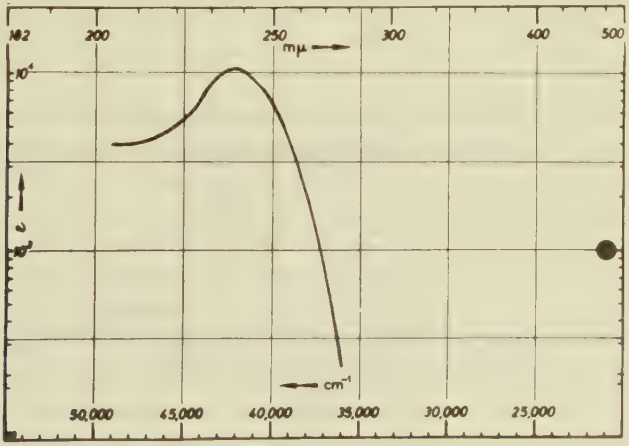
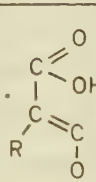
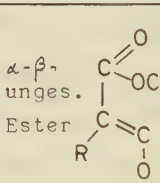
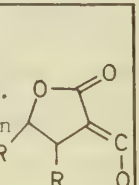


Abb. 12

UV-Spektrum der Verbindung P_B

2.4.3. IR-Spektren

Nur relativ wenige Banden des IR-Spektrums eines Iridoides ergeben Aufschluss über die Struktur der Verbindung.So erscheint die Streckschwingungsbande der in allen cyclopentanoiden Iridoiden auftretenden Doppelbindung zwischen den C-Atomen C-3 und C-4 bei 1630 bis 1660 cm^{-1}. Besitzt das Molekül am C-Atom C-4 eine Carboxylfunktion, so treffen die in Tabelle 7 angegebenen Werte für die Streckschwingung der Carbonylfunktion zu [78,90]:

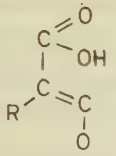
Chromophor	α-β-unges. Säure 	α-β-unges. Ester 	α-β-unges. Lakton 
$\tilde{\nu}$ max (cm^{-1})	1680-1710	1710-1735	1740-1760

Tab. 7

Die Carbonylfunktion von Fünfringketonen (Verbenalin) sowie primäre, sekundäre und tertiäre Hydroxylfunktionen sind ebenfalls aus einem IR-Spektrum gut zuzuordnen.

IR-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C:

Eine in allen drei Verbindungen vorkommende Bande bei 1635 cm^{-1} wird der Doppelbindung der C-Atome C-3 und C-4 zugeordnet.Die bei 1685 cm^{-1} und 1690 cm^{-1} erscheinende Doppelbande der Verbindung P_A wurde der Carbonyl-Streckschwingung der α-β - ungesättigten Säurefunktion zugeordnet.Der Vergleich mit ähnlichen, sauren Iridoiden wird in Tabelle 8 angegeben.

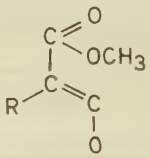
Chromophor $\tilde{\nu}$ max (cm^{-1})		Lösungsmittel
Verbindung P_A	1685, 1690	KBr
Paederosidsäure [56]	1690	KBr
Monotropein [22,49,50]	1700	Nujol
Loganinsäure [19,32]	1715	$CHCl_3$
β-Dihydroplumericinsäure [2]	1680	KBr
Scandosid [56]	1680	KBr
Genipinsäure [80]	1725	$CHCl_3$

Tab. 8

Vergleich der Carbonyl-Streckschwingungen der Verbindung P_A mit denen anderer, saurer Iridoid-Glykoside.

Bei dieser Tabelle ist zu beachten, dass die in Chloroform gemessenen Spektren naturgemäss höhere Werte ergeben als die in anderen Lösungsmitteln.

Auch die Verbindung P_B lässt sich auf diese Weise mit bekannten Literaturwerten vergleichen (s. Tabelle 9).

Chromophor $\tilde{\nu}$ max (cm^{-1})		Lösungsmittel
Verbindung P_B	1715	KBr
Loganin [19]	1722	KBr
Verbenalin [29]	1730	KBr
Genipin [33]	1725	$CHCl_3$
Plumericin [2]	1715	KBr

Tab. 9

Vergleich der Carbonyl-Streckschwingung der Verbindung P_B mit denen ähnlicher Iridoid-Glykoside.

Weitere Banden der IR-Spektren von den Verbindungen P_A, P_B und P_C und ihre Zuordnung lassen sich aus Tabelle 10 entnehmen.

Zuordnung der Schwingungen	P_A	P_B	P_C
C-H st.	2940, 2920, 2880, 2840		
Methylester C-O st.	—	1435	1430
Methylester C-O st.	—	1380	1370
Acetat C-O st.	—	—	1200-1250
Äther C-O st.	1000 — 1100		

st = Streckschwingung

Tab. 10

C-H und C-O Streckschwingungen der Verbindungen P_A, P_B und P_C .

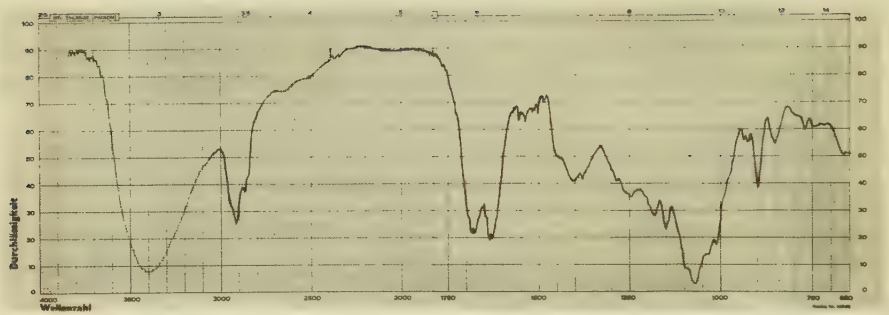


Abb. 13

IR-Spektrum der Verbindung P_A.

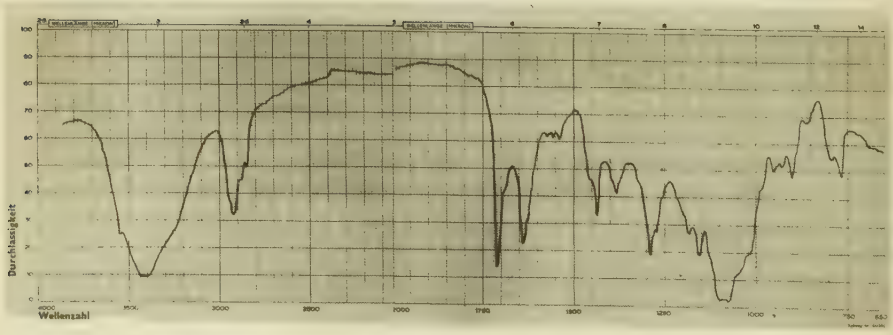


Abb. 14

IR-Spektrum der Verbindung P_B

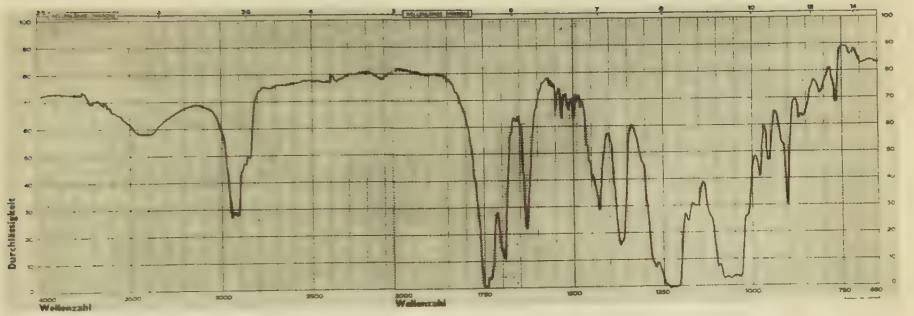


Abb. 15

IR-Spektrum der Verbindung P_C.

2.4.4. NMR-Spektren

Allgemeines;

Die Interpretation der Kernresonanz-Spektroskopie bei den Iridoid-Glykosiden wird dadurch erschwert, dass ein grosser Teil der Protonensignale übereinander liegen.Das trifft besonders für die elf Zuckerprotonen zu.Die fünf Hydroxylprotonen können zwar mit D_2O ausgetauscht werden, die übrigen sechs Protonen jedoch nicht.Diese Schwierigkeit wird beseitigt, wenn man die Substanz acetyliert.Alle Protonen, die an einem C-Atom stehen, das eine Hydroxylgruppe trägt, werden nach höherem Feld verschoben.Diese Methode hat auch den Vorteil, dass sich aus der Integration der Acetyl-Methyl Protonen die Anzahl der Hydroxylgruppen ergibt.

Das acetalische Proton am C-Atom C-1 erscheint in der Regel zwischen δ 5,0 bis 5,6 ppm.Es wird durch das Proton am benachbarten C-Atom C-9 in ein Dublett gespalten, dessen Kopplungskonstante etwa 4 bis 7 Herz beträgt.Ein Vergleich der chemischen Verschiebungen und der Kopplungskonstanten von P_B mit einigen Iridoiden wird in Tabelle 11 dargestellt.
Durch eine weitere Kopplung mit dem Proton des C-Atoms C-5 wird das Dublett in ein Doppeldublett aufgespalten.Die Kopplungskonstante ist jedoch kleiner als ein Herz.Sie wird in Tabelle 11 nicht angeführt.

	chem. Verschiebung des Protons am C-1 δ	Kopplungs-konstante	Lösungs-mittel
Verbindung P_B	5,4 ppm	4,5 Hz	CD_3OD

Tab. 11

Tabelle 11 Fortsetzung :

	chem. Verschiebung des Protons am C-1 δ	Kopplungs-konstante	Lösungs-mittel
Antirrhinosid [76]	5,5 ppm	6,5 Hz	D_2O
Aucubin [42,87]	5,2 ppm	5,0 Hz	D_2O
Loganin [8,19,57,77]	5,4 ppm	4,5 Hz	D_2O
Verbenalin +	5,3 ppm	4,5 Hz	CD_3OD
Melittosid [74,75]	5,5 ppm	5,0 Hz	D_2O
Monotropein ++	5,6 ppm	3-4 Hz	D_2O
Plumericin [2]	5,5 ppm	6,0 Hz	$CDCl_3$
Scandosid [56]	5,3 ppm	5,0 Hz	D_2O

Tab. 11

Die chemische Verschiebung und Kopplungskonstante des Protons am C-Atom C-1 bei einigen Iridoid-Glykosiden im Vergleich zur Verbindung P_B.

Einige Autoren geben jedoch als Kopplungskonstanten auch abweichende Werte an (s. Tabelle 12).

	chem. Verschiebung des Protons am C-1 δ	Kopplungs-konstante	Lösungs-mittel
Genipin [33]	4,8 ppm	9,0 Hz	$CDCl_3$
Lamiol, Lamiosid [73]	5,9 ppm	0,8 Hz	D_2O
Procumbid [85,86]	5,4 ppm	8,0 Hz	D_2O
Unedosid [35]	5,6 ppm	9,5 Hz	
Harpagid [63]	5,7 ppm	6,8 Hz	D_2O

Tab. 12

Einige Iridoid-Glykoside, deren Kopplungskonstanten des Protons am C-Atom C-1 von denen in Tab. 11 angegebenen abweichen.

+ Herr Prof. Dr. Rimpler stellte mir Verbenalin (aus Verbena officinalis) für eigene Messungen zur Verfügung.

++ Herr Prof. Dr. Rimpler stellte mir Monotrópein (aus Galium glaucum) für eigene Messungen zur Verfügung.

NMR-Spektrum der Verbindung P_B:

Die chemische Verschiebung des Protons am C-Atom C-3 ist der Tabelle 13 zu entnehmen.Es werden jedoch nur die Iridoide verglichen, die am C-Atom C-4 eine Carboxylfunktion tragen.Das Proton am C-Atom C-3 tritt dann als Singulett auf, wenn die Iridoide am C-Atom C-5 substituiert sind.Steht aber ein Proton am C-Atom C-5, dann tritt ein Dublett mit einer Kopplung von ungefähr einem Herz zum C-Atom C-3 auf.Auf diese Kopplung wird in Tabelle 13 nicht eingegangen.

	chem. Verschiebung des Protons am C-3 δ	Lösungsmittel
Verbindung P_B	7,4 ppm	CD_3OD
Asperulosid [25,26]	7,2 ppm	CD_3OD
Daphyllosid [53]	7,5 ppm	D_2O
Plumericin [2]	7,4 ppm	$CDCl_3$
Genipin [33]	7,5 ppm	$CDCl_3$
Loganin [19,57,77]	7,8 ppm	D_2O

Tab. 13

Tabelle 13 Fortsetzung:

	chem. Verschiebung des Protons am C-3 δ	Lösungsmittel
Monotropein [++]	7,5 ppm	CD_3OD
Scandosid [56]	7,5 ppm	D_2O
Verbenalin [+]	7,4 ppm	CD_3OD
Theviridosid [79]	7,4 ppm (s)	D_2O

s = Singulett

Tab. 13

Die chemische Verschiebung des Protons am C-Atom C-3 bei einigen Iridoid-Glykosiden im Vergleich zur Verbindung P_B.

Das Dublett der Verbindung P_B bei δ 1,1 ppm, welches drei Protonen entspricht, zeigt eine Kopplungskonstante von sechs Herz. Das spricht für eine Methylgruppe, die am benachbarten C-Atom ein Proton aufweist. Aus biogenetischen Gründen wird diese Methylgruppe dem C-Atom C-8 zugeschrieben. Die vergleichbaren Werte der Literatur stimmen gut mit den Angaben der Verbindung P_B überein und werden in Tabelle 14 dargestellt.

+ siehe Fussnote Seite 48

++ siehe Fussnote Seite 48

NMR-Spektrum der Verbindung P_B:

Die chemische Verschiebung des Protons am C-Atom C-3 ist der Tabelle 13 zu entnehmen.Es werden jedoch nur die Iridoide verglichen, die am C-Atom C-4 eine Carboxylfunktion tragen.Das Proton am C-Atom C-3 tritt dann als Singulett auf, wenn die Iridoide am C-Atom C-5 substituiert sind.Steht aber ein Proton am C-Atom C-5, dann tritt ein Dublett mit einer Kopplung von ungefähr einem Herz zum C-Atom C-3 auf.Auf diese Kopplung wird in Tabelle 13 nicht eingegangen.

	chem. Verschiebung des Protons am C-3 δ	Lösungsmittel
Verbindung P_B	7,4 ppm	CD_3OD
Asperulosid [25,26]	7,2 ppm	CD_3OD
Daphyllosid [53]	7,5 ppm	D_2O
Plumericin [2]	7,4 ppm	$CDCl_3$
Genipin [33]	7,5 ppm	$CDCl_3$
Loganin [19,57,77]	7,8 ppm	D_2O

Tab. 13

Tabelle 13 Fortsetzung:

	chem. Verschiebung des Protons am C-3 δ	Lösungsmittel
Monotropein ++	7,5 ppm	CD_3OD
Scandosid [56]	7,5 ppm	D_2O
Verbenalin +	7,4 ppm	CD_3OD
Theviridosid [79]	7,4 ppm (s)	D_2O

s = Singulett

Tab. 13

Die chemische Verschiebung des Protons am C-Atom C-3 bei einigen Iridoid-Glykosiden im Vergleich zur Verbindung P_B.

Das Dublett der Verbindung P_B bei δ 1,1 ppm, welches drei Protonen entspricht, zeigt eine Kopplungskonstante von sechs Herz. Das spricht für eine Methylgruppe, die am benachbarten C-Atom ein Proton aufweist. Aus biogenetischen Gründen wird diese Methylgruppe dem C-Atom C-8 zugeschrieben. Die vergleichbaren Werte der Literatur stimmen gut mit den Angaben der Verbindung P_B überein und werden in Tabelle 14 dargestellt.

\+ siehe Fussnote Seite 48

++ siehe Fussnote Seite 48

	chem. Verschiebung der Protonen am C-10 δ	Kopplungs-konstante	Lösungs-mittel
Verbindung P_B	1,1 ppm	6,6 Hz	CD_3OD
Loganin [8,19.57,77]	1,0 ppm	7,0 Hz	D_2O
Verbenalin +	0,99 ppm	7,0 Hz	CD_3OD

Tab. 14

Die chemische Verschiebung und Kopplungskonstante der Methyl-Protonen am C-Atom C-10 bei zwei Iridoid-Glykosiden im Vergleich zur Verbindung P_B.

Bei 3,73 ppm erscheint ein Singulett.Die Integration ergibt drei Protonen.Dieser peak kann der Carboxy-Methyl-gruppe zugeordnet werden.Diese Angabe stimmt mit den in der Literatur angegebenen Werten überein. [78,90]

Die übrigen peaks lassen sich nicht mehr genau zuordnen. Sie gehören zu den Protonen des Fünf-Ringes und des Zuckers. Die Kopplungen dieser Protonen untereinander verursachen Multipletts.

+ siehe Fussnote Seite 48
++ siehe Fussnote Seite 48

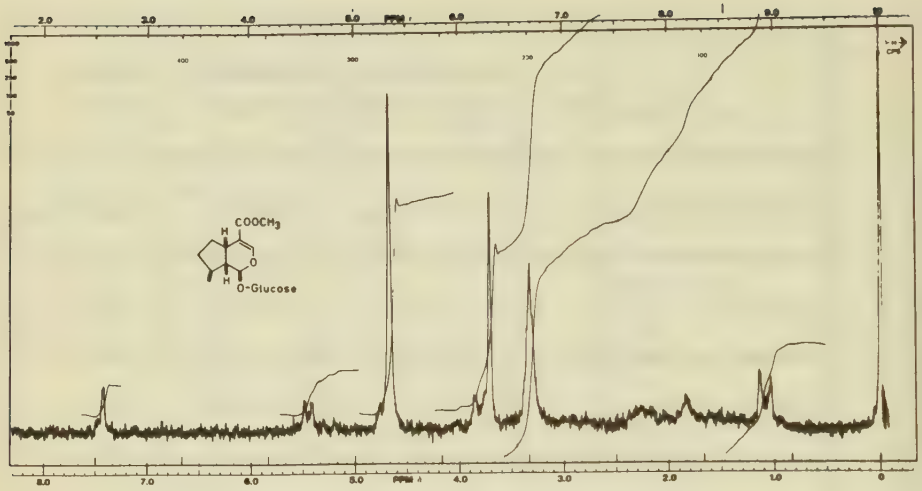


Abb. 16

NMR-Spektrum der Verbindung P_B (Spektrum-Amplitude = 32)

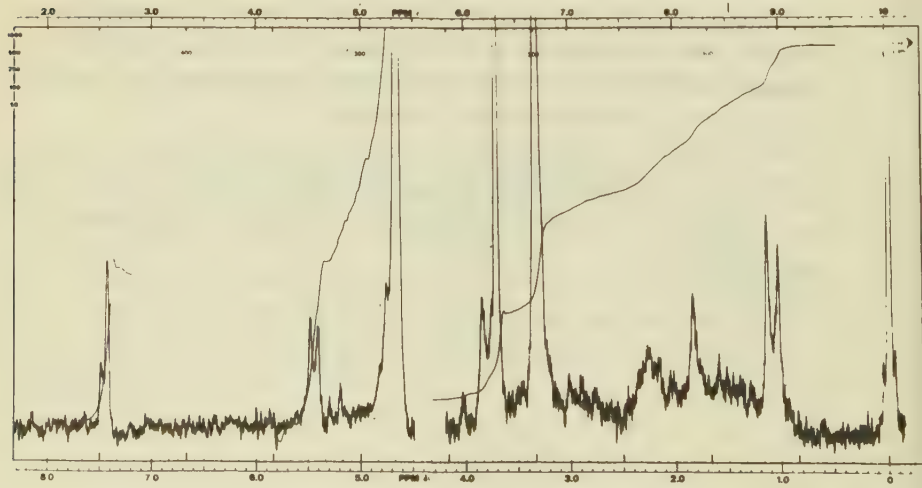


Abb. 17

NMR-Spektrum der Verbindung P_B (Spektrum-Amplitude = 125)

NMR-Spektrum der Verbindung P_C:

Für die Protonen der C-Atome C-3, C-10 und C-1 sowie die der Esterfunktion ergeben sich im Kernresonanz-Spektrum der Verbindung P_C im Vergleich zur Verbindung P_B keine wesentlichen Veränderungen (s. Tabelle 15) .

Proton(en) am C-Atom	chemische Verschiebung δ	Kopplungs-konstante	Lösungs-mittel
C-3	7,3 ppm	d (1 Hz)	$CDCl_3$
C-10	1,1 ppm	d (6,6Hz)	$CDCl_3$
C-1	5,4 ppm	d (4,5Hz)	$CDCl_3$
C-11	3,7 ppm	s	$CDCl_3$

s = Singulett , d = Dublett

Tab. 15

Die chemischen Verschiebungen und Kopplungskonstanten einiger Signale im NMR-Spektrum der Verbindung P_C .

Die Acetat-Protonen erscheinen alle in der Gegend von δ 2 ppm .Die genauen Daten sind der Tabelle 16 zu entnehmen.
Aus der Integration ergibt sich die Anzahl von vier Acetat-Gruppen.Das bedeutet, dass ausser den Hydroxyl-gruppen des Zuckers keine weiteren primären oder sekundären Hydroxyl-funktionen im Molekül vorhanden sind.

chemische Verschiebung δ	Anzahl der Protonen	Aufspaltung
1,9 ppm	3 H	s
1,99 ppm	3 H	s
2,02 ppm	3 H	s
2,1 ppm	3 H	s

s = Singulett

Tab. 16

Die chemische Verschiebung und die Aufspaltung der Acetat-Protonen im NMR-Spektrum der Verbindung P_C .

Die übrigen Signale sind Multipletts, deren Zuordnung in Tabelle 17 zusammengefasst ist.

chemische Verschiebung δ	Anzahl der Protonen	Zuordnung	Lösungsmittel
4,8-5,2 ppm	5 H	Zucker-protonen, C-1	$CDCl_3$
4,2 ppm	2 H	Zucker-protonen (C-6')	$CDCl_3$
1,2-3,2 ppm	7 H	Aglykon-protonen	$CDCl_3$

Tab. 17

Die restlichen Signale des NMR-Spektrums der Verbindung P_C und ihre Zuordnung.

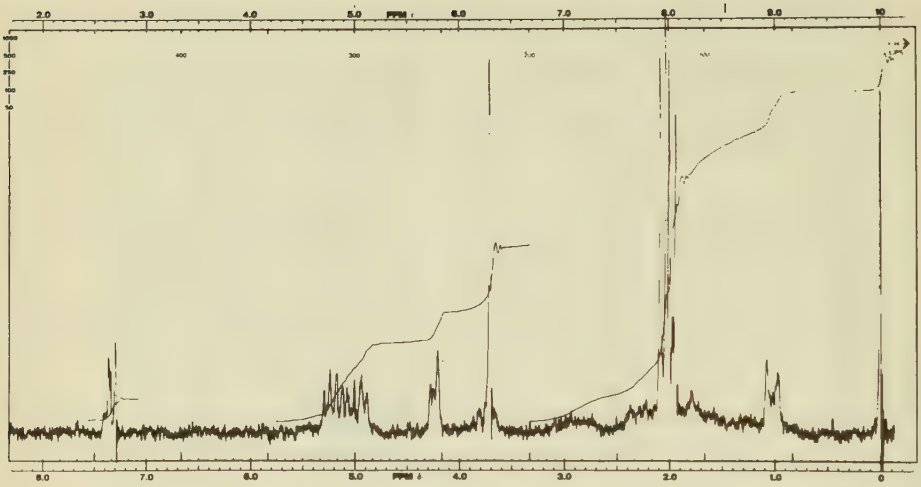


Abb. 18

NMR-Spektrum der Verbindung P_C (Spektrum-Amplitude = 50)

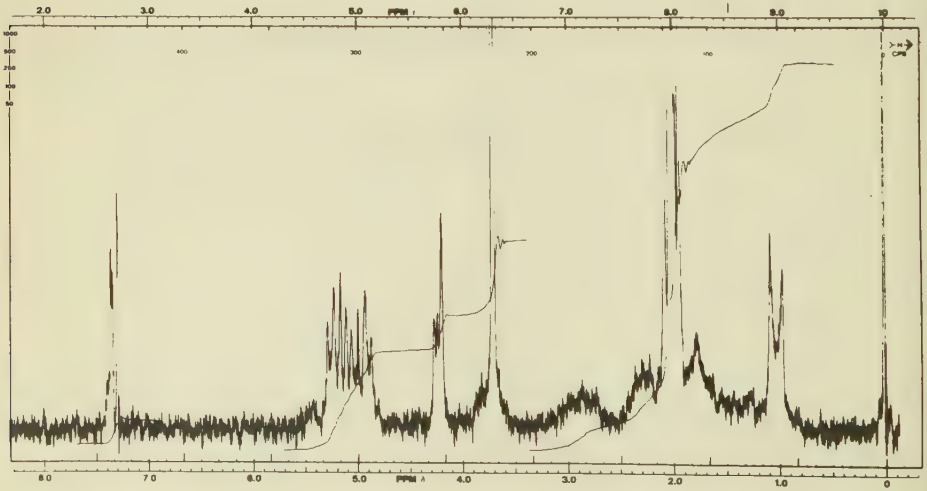


Abb. 19

NMR-Spektrum der Verbindung P_C (Spektrum-Amplitude = 125)

2.4.5. Massen-Spektren :

Wie Bentley [18] zeigt, bringt die Anwendung der Massen-Spektroskopie bei den Iridoiden folgende Ergebnisse :

Die Iridoid-Glykoside sind im allgemeinen so leicht flüchtig, dass sie ohne Schwierigkeiten gemessen werden können.

Die erste Fragmentation, die bei allen untersuchten Iridoiden beobachtet wurde, entsteht durch die Abspaltung des Zuckers und anschliessende Wasserstoff-Übertragung auf das gebildete Aglykon.Die Fragmente des Zuckerrestes haben keinen Einfluss auf das Molekül-Ion und die Bruchstücke des Aglykons.Wie im Falle des Loganins gezeigt werden konnte, ergaben die Massen-Spektren des Glykosids und des Aglykons bezüglich der Fragmentation des Aglykons keine grossen Unterschiede.Dabei konnten jedoch die Bruchstücke des Zuckerrestes beobachtet werden, die von Finan und Mitarbeitern [34] bereits beschrieben worden waren : die peaks bei

m/e 162, 145, 127, 109, 73, 61 und 60

wurden den Glucosefragmenten zugeordnet.Die entsprechenden Bruchstücke des acetylierten Zuckers, die von Heyns [47] genauer untersucht wurden, sind :
m/e 331, 271, 229, 211, 169, 127, 109 .

Entsprechend den Bruchstücken des unsubstituierten Zuckers, die vor allem durch den Austritt von Wasser entstehen, erklärt sich die Fragmentation des acetylierten Zuckers durch die Abspaltung von Essigsäure bzw. Keten.

Vernachlässigt man die peaks, die durch die Zuckerbruchstücke hervorgerufen werden, so bleiben die peaks des Aglykons und seiner Fragmente übrig.Die Massen-Spektren der Verbindungen P_A, P_B und P_C lassen sich gut miteinander vergleichen.Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 dargestellt.

m/e	Verb. P_A	Verb. P_B	Verb. P_C	mögliche Summenformel
542	—	—	M	$C_{25}H_{34}O_{13}$
374	—	M	—	$C_{17}H_{26}O_9$
212	—	M^*	M^*	$C_{11}H_{16}O_4$
198	M^*	—	—	$C_{10}H_{14}O_4$
194	—	M^*-H_2O	M^*-H_2O	$C_{11}H_{14}O_3$
180	M^*-H_2O	M^*-CH_3OH	—	$C_{10}H_{12}O_3$
152	180- C=O	180- C=O	180- C=O	$C_9H_{12}O_3$
139	siehe Abbildung 20			$C_7H_7O_3$

M = Molekül-Ion ; M^* = Molekül-Ion des Aglykons

Tab. 18

Charakteristische Fragmente im Massenspektrum der Verbindungen P_A, P_B und P_C .

Die charakteristischen Bruchstücke der Verbindung P_B und ihre Deutung sind in Abbildung 20 dargestellt.

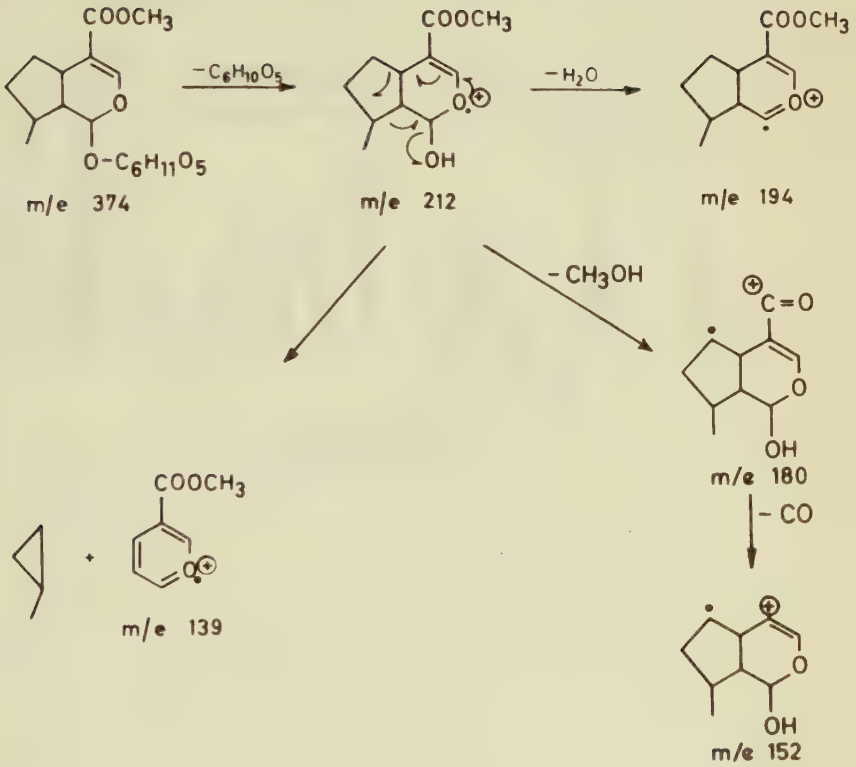
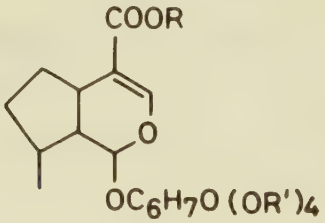


Abb. 20

Charakteristische Fragmente der Verbindung P_B

Aus dem Molekulargewicht der Verbindung P_B und der Elementaranalyse errechnet sich die Summenformel $C_{17}H_{26}O_9$ .Das entspricht einem Iridoid, dessen Aglykon ausser der Carboxy-Methylgruppe keine weiteren funktionellen Gruppen trägt.

Die Strukturen I, II und III werden auf Grund der spektroskopischen Untersuchungen für die Verbindungen P_A, P_B und P_C vorgeschlagen:



P_A = I : R = R' = H

P_B = II : R = CH_3 ; R' = H

P_C = III : R = CH_3 ; R' = Acetyl

Abb. 21

Die Verbindung P_A ist unseres Wissens nach bisher weder aus pflanzlichem Material isoliert noch synthetisiert worden.

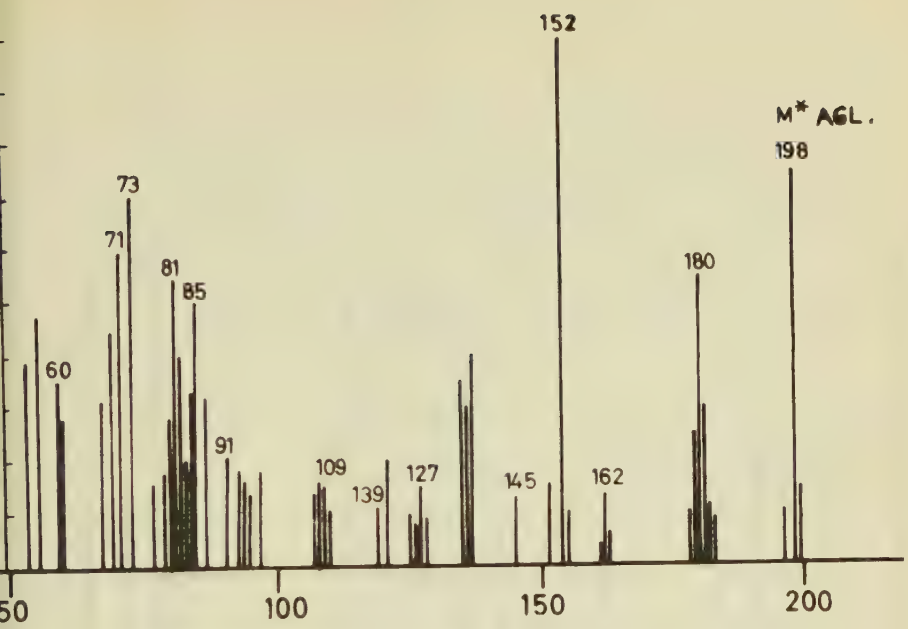


Abb. 22

Massenspektrum der Verbindung P_A

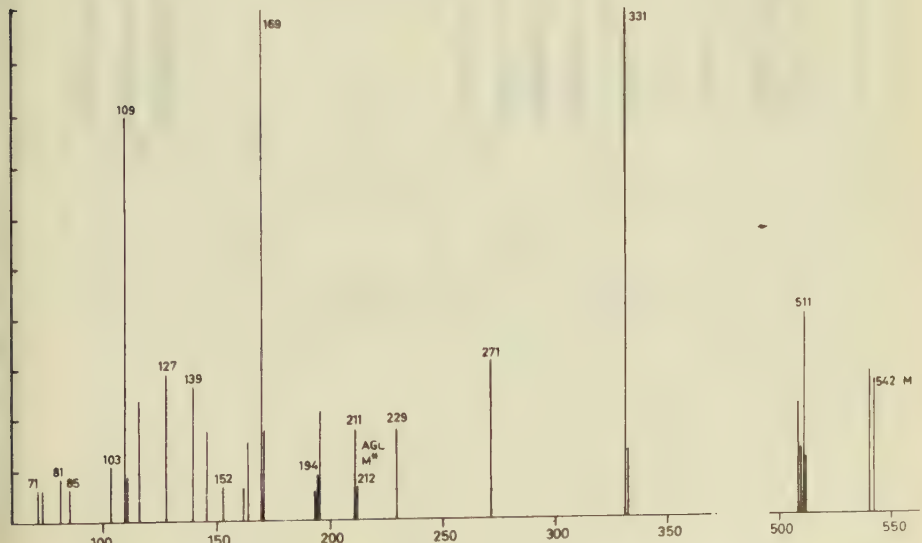


Abb. 23

Massenspektrum der Verbindung P_C

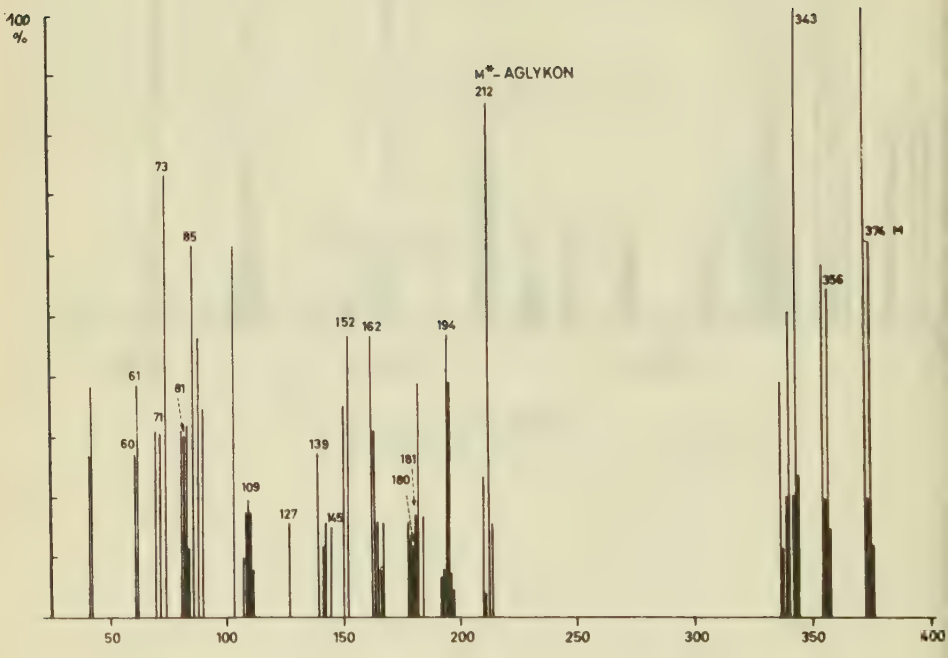


Abb. 24

Massenspektrum der Verbindung P_B

2.5. Stereochemie der Verbindung P_A

Die Verbindungen P_B und P_C sind schon des öfteren dargestellt und beschrieben worden.[25,26,40,49-53] Auf Grund der sehr ähnlichen analytischen Ergebnisse der Verbindung P_B mit dem von Inouye[50] beschriebenen Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester strebten wir einen direkten Vergleich beider Substanzen an [+] .Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 dargestellt.

	Verbindung P_B	Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester
Schmelzpunkt	157° - 157,5°	157°
Misch-Schmelzpunkt	154° —— 156°	
Eutektikum mit Phenacetin	123°	123°
Eutektikum mit Acetanilid	104°	104°
Optische Drehung	$[\alpha]_D^{20°} = -90°$ (c= 0,295; ÄtOH)	$[\alpha]_D^{22°} = -88,7°$ (c= 0,34 ; ÄtOH)

Tab. 19

+ Wir danken Herrn Professor Dr. H. Inouye, Tokio, für die Überlassung einer Probe Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester.

Tabelle 19 Fortsetzung :

Rf-Werte im System	Verbindung P_B	Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester
I	0,27	0,27
II	0,73	0,73
III	0,48	0,48
IV	0,75	0,75
V	0,69	0,69

I : Dünnschichtchromatographie: Chloroform/Methanol 85:15
II : Dünnschichtchromatographie:
Methylenchlorid/Azeton/Äthanol 8:2:2
III : Dünnschichtchromatographie: Benzol/Azeton 1:1
IV : Papierchromatographie :
Isoamylalkohol/Essigsäure/Wasser/Hexan 3:3:3:1
V : Papierchromatographie : Butanol/Methanol/Wasser 4:1:5

Ein Vergleich der IR-Spektren beider Verbindungen im Bereich von 650 bis 1800 cm^{-1} ergab eine weitgehende Übereinstimmung. Nur im Bereich um 965 cm^{-1} zeigte die Vergleichssubstanz eine Bande, die die Verbindung P_B nicht

aufwies.Da jedoch alle anderen analytischen Werte in vollem Einklang miteinander stehen, wird diese Bande wahrscheinlich von einer Verunreinigung der Vergleichssubstanz hervorgerufen.Die Ergebnisse der Schmelzpunkte, Misch-Schmelzpunkte, Eutektika und der spezifischen Drehung beider Verbindungen sind identisch.Bei der Frage nach der Stereochemie der Verbindung P_B kann somit das Vorhandensein eines Diastereomeren ausgeschlossen werden.Die absolute Konfiguration der Verbindung P_A entspricht also der des Monotropeins [55,67] und wird in Abbildung 25 dargestellt.

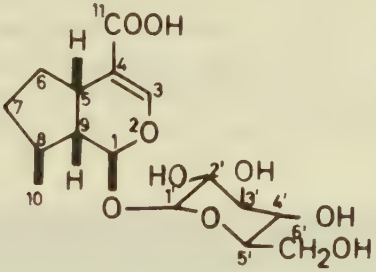


Abb. 25

Die absolute Konfiguration des Bisdesoxydihydromonotropeins.

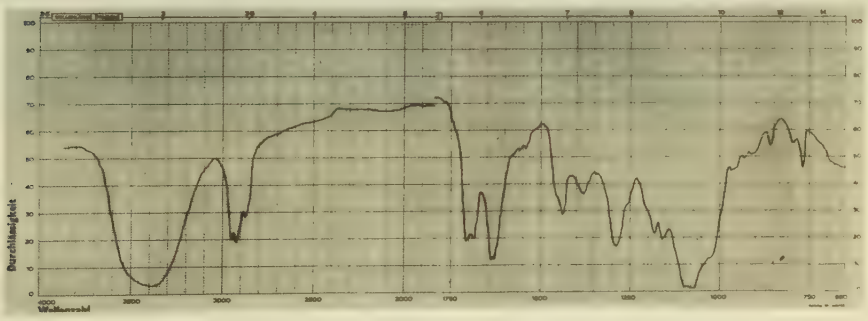


Abb. 26

IR-Spektrum des authentischen Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters.

3. Isolierung und Charakterisierung der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F

Wie bereits beschrieben wurde (s. A.2.2.), trennt der Ionenaustauscher zwei saure Substanzen von der neutralen Fraktion ab.Die eine Verbindung (P_A) wurde als Bisdesoxydihydromonotropein identifiziert.Die zweite Verbindung, der wir die Arbeitsbezeichnung P_D geben möchten, wurde auf dem Wege der präparativen Schichtchromatographie (s. B.2.) in reiner Form erhalten.Aber weder die Verbindung P_D noch das methylierte (P_E ; s. B.2.3.1.) und acetylierte (P_F ; s. B.2.3.2.) Produkt liessen sich kristallisieren.Sie konnten jedoch als weisse, amorphe Pulver für analytische Zwecke benutzt werden.Die IR-Spektren der Verbindungen P_B und P_E sind sehr ähnlich (s. Abb. 14 und 27).

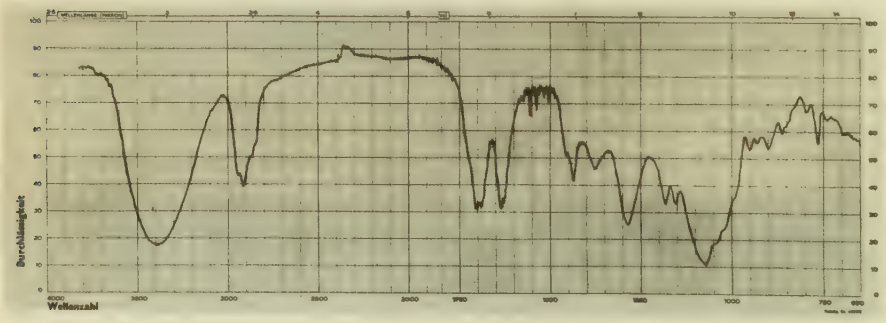


Abb. 27

IR-Spektrum der Verbindung P_E

Das Massen-Spektrum der Verbindung P_F weist einen Molekülpeak bei m/e 558 auf. Da auch die wichtigsten Fragmente denen der Verbindung P_C gleichen, wird von uns vorläufig für die Verbindung P_D folgende Formel vorgeschlagen:

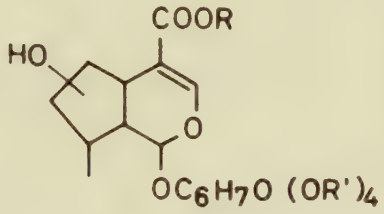


Abb. 28

Vorläufiger Formelvorschlag für die Verbindungen P_D, P_E und P_F.

P_D = I : R = R' = H

P_E = II : R = CH_3 ; R' = H

P_F = III : R = CH_3 ; R' = Acetyl

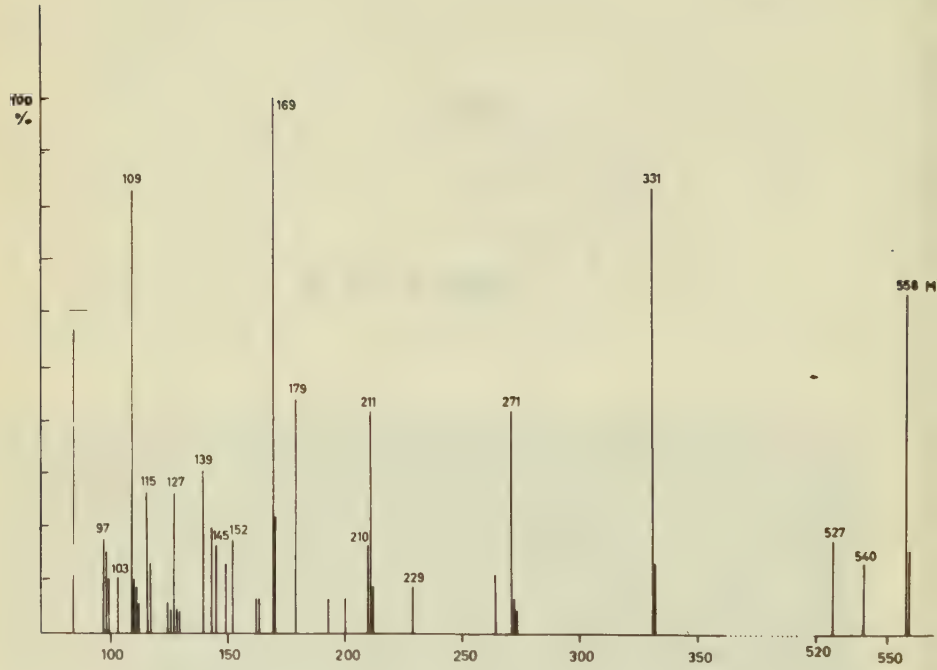


Abb. 29

Massen-Spektrum der Verbindung P_F

B. Experimenteller Teil

Die Blätter und Wurzeln von Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa wurden im Herbst 1966 gesammelt, sofort 20 Minuten lang auf 110° erhitzt und anschliessend bei 80° getrocknet.Das zum Anbau verwendete Samenmaterial stammte von der Firma Meisert (Hannover).

Für die Dünnschichtchromatographie wurden Platten von 20 x 20 cm Grösse verwendet.Sie wurden mit dem Streichgerät nach STAHL (Firma Desaga) beschichtet;die Schichtdicke des Sorptionsmittels (Kieselgel H 'Merck') betrug etwa 200 µ .

Für die Papierchromatographie wurde das Papier Schleicher und Schüll Nr. 2043 bM in Bogen von 20 x 20 cm Grösse verwendet.Es wurde aufsteigend entwickelt.

Konzentrations- und Verhältnisangaben bei Laufmitteln für die Chromatographie beziehen sich auf Volumina (v/v).

Die Elementaranalyse wurde im mikroanalytischen Laboratorium I. Beetz, Kronach/Ofr., durchgeführt.

Die UV-Spektren wurden mit dem Beckmann Spektrophotometer DU G 2400 aufgenommen (methanolische Lösungen; Quarzküvetten; Schichtdicke 2,000 cm).

Die IR-Spektren wurden mit einem Unicam IR-Spektrophotometer Sp 200 G aufgenommen.Zur Messung gelangten KBr Presslinge.

Die NMR-Spektren[+] wurden mit einem Varian A 60 A Gerät in $CDCl_3$ (Verbindung P_C), bzw. CD_3OD aufgenommen.

Die Massen-Spektren[++] wurden mit einem Massen-Spektrograph Atlas CH 4 aufgenommen.

Die Schmelzpunkte wurden auf einem Kofler Heiztischmikroskop bestimmt; sie sind nicht korrigiert.

+ Wir danken Herrn Dr. K.Rehse (Pharmazeutisches Institut der FU Berlin) für die Aufnahme der NMR-Spektren.

++ Wir danken Herrn Dr. G. Schulz (Firma Schering AG) für die Aufnahme der Massen-Spektren.

1. Chemische und chromatographische Voruntersuchungen

Aufarbeitung des Pflanzenmaterials :

Je 20 g der Blätter (bzw. der Wurzeln) von Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa wurden gepulvert und vier Stunden lang in einem kleinen Soxhlet-Apparat mit Methanol extrahiert.Das Lösungsmittel wurde abgedampft und der Rückstand in wenig Wasser gelöst.Die wässrige Lösung wurde zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt und zur Trockne eingeengt.Der Extrakt wurde in 5 ml Methanol gelöst und so für die Voruntersuchungen verwendet.

1.1. Untersuchungen mit dem Reagenz nach Trimm und Hill

Das Reagenz zum Nachweis von Iridoiden nach Trimm und Hill [84] lässt sich durch Versetzen von 10 Teilen Eisessig mit 0,5 Teilen konzentrierter Salzsäure und 1 Teil einer 0,2 % Kupfersulfatlösung bereiten.

3 ml dieses Reagenzes werden mit verschiedenen Konzentrationen der methanolischen Lösung versetzt.Dabei werden die auftretenden Farbintensitäten miteinander verglichen.Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

1.2. Anfertigung der Chromatogramme

Von den methanolischen Lösungen wurden jeweils 0,01 ml auf die Startpunkte aufgetragen.Aus einer Vielzahl erprobter Laufmittel ergab die Mischung Chloroform/Methanol 85:15 bei einmaligem Entwickeln die beste Trennung der Inhaltsstoffe.Da die Platten bei Tageslicht keine Flecken zeigten, wurden die im UV-Licht sichtbaren Zonen markiert. Zum Nachweis auf Iridoide wurden dann folgende Sprühreagenzien verwendet (s. Tabelle 2) :

Reagenz 1 : Eine 3 %ige methanolische Vanillinlösung, der man kurz vor dem Besprühen 1 ml konzentrierte Schwefelsäure pro 100 ml Reagenz zufügt.

Reagenz 2 : Eine gesättigte Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform.

Reagenz 3 : Ehrlich-Reagenz: 2 g p-Dimethylaminobenzanilid werden in 80 ml Methanol gelöst und mit 20 ml konzentrierter Salzsäure versetzt.

Nach dem Besprühen mit den Reagenzien müssen die Platten auf 110° erhitzt werden.

2. Die Isolierung von Bisdesoxydihydromonotropein aus Physostegia virginiana var. virginiana und var. speciosa

150 g gepulverte Droge (Blätter oder Wurzeln) werden in siedendes Äthanol gegeben und dreimal 30 Minuten mit Äthanol ausgekocht.Anschliessend wird das Lösungsmittel der vereinigten Extrakte abgedampft.Der Rückstand (58 g) wird in möglichst wenig Methanol gelöst. In diese Lösung lässt man soviel Celite einrieseln, bis ein fester Brei entsteht, der über Nacht im Vakuum getrocknet wird.

Celite-Säule: Das trockene, mit Extrakt beladene Celite wird gepulvert und auf eine Celite-Säule (Ø = 5 cm; 300 g Celite) gegeben.Zunächst wurde mit Methylenchlorid/Hexan (1:1) eluiert, bis im Durchlauf kein Chlorophyll mehr nachzuweisen war.Dieses Eluat I wird verworfen.Danach eluiert man mit Methylenchlorid Methanol (85:15), bis im Eluat II mit dem Reagenz nach Trimm und Hill keine Iridoide mehr nachzuweisen sind.Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels verblieben 4,5 g Rückstand.

Perlon-Säule: 100 g gewaschenes Perlon wird auf eine Säule gebracht (Ø = 6 cm; Länge = 60 cm).Das Laufmittel ist Wasser/Methanol (85:15).Der Extrakt muss in einer abgemessenen Menge Methanol gelöst werden und dann mit Wasser auf die Konzentration des Laufmittels verdünnt werden.Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels verblieben 2,9 g Rückstand (Eluat III).

Ionenaustauscher-Säule: 100 g Amberlite IRA 400 (OH-Form) werden mit 10 %iger Essigsäure in die Acetat-Form überführt und mit Wasser bis zum neu-

tralen Durchlauf gewaschen.Der Rückstand des Eluates III wird in möglichst konzentrierter, wässriger Lösung auf die Säule gebracht (Ø = 3cm). Mit Wasser wird solange eluiert, bis das Reagenz nach Trimm und Hill [84] mit dem Eluat keine positive Reaktion mehr gibt.Mit 10 %iger Essigsäure beschickt man die Säule dann solange, bis im sauren Eluat Iridoide chromatographisch nicht mehr nachzuweisen sind (Eluat IV) .

Reinigung an Kohle: Die essigsaure Lösung wird bei 35° im Vakuum auf die Hälfte seines Volumens eingedampft und anschliessend eine Stunde lang mit 20 g Darco Kohle gerührt.Die Kohle wird durch Filtration von der essigsauren Lösung getrennt und solange mit Wasser gewaschen, bis im Filtrat keine Säure mehr nachzuweisen ist.Dann eluiert man mit Methanol/Wasser (1:1), bis im Filtrat keine Iridoide mehr chromatographisch nachzuweisen sind.Nach dem Eindampfen des Filtrats verbleiben 200 mg Rückstand.

Präparative Schichtchromatographie: 200 mg Rückstand werden auf zwei Platten aufgebracht (Schichtdicke = 5 mm ; Kieselgel HF 254).Nach dreimaligem Entwickeln in dem Laufmittel Methylenchlorid Methanol (8:2) konnte die dem Bisdesoxydihydromonotropein entsprechende Zone entnommen werden. Das Kieselgel wurde mit 300 ml heissem Methanol eluiert und das Eluat eingeengt.Aus Wasser kristallisierten 10 mg reines Bisdesoxydihydromonotropein vom Schmelzpunkt 113° - 115° .

UV-Spektrum : $\lambda_{max.}^{H_2O}$ 231 nm (ϵ = 9850)

IR-Spektrum : Die Absorptionsbanden liegen bei folgenden Wellenzahlen :

$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2940 w, 2920 m, 2870 w, 1685 s, 1680 s, 1635 s, 1630 s, 1380 w, 1285 w, 1180 w, 1150 w, 1000 - 1100 s, 940 w, 930 w, 900 s, 850 m, 770 w.

s=starke, m=mittelstarke, w=schwache Bande

c = 1,12 mg P_A / 150 mg KBr

Massen-Spektrum : m/e 198 (M^*), 180, 162, 154, 145, 127, 109, 91, 85, 81, 73, 71 .

M^* = Aglykon-Molekülion

2.1. Darstellung von Derivaten

2.1.1. Methylierung : 3 g N-(p-tolylsulfonyl)-N-methyl-nitrosamid (0,015 Mol) werden in 40 ml Äther gelöst. Unter Eiskühlung wird eine Lösung von 0,6 g Kalilauge in 10 ml Äthanol (90 %) dazugegeben. Unter ständigem Rühren wird die Lösung vorsichtig erhitzt. Das in Äther lösliche Diazomethan wird dabei in eine Vorlage destilliert. Die Destillation kann als beendet angesehen werden, wenn kein gelbes Gas mehr im Kühler zu sehen ist. Die Ausbeute ist etwa 75 % .

Die ätherische Diazomethanlösung wird langsam zu der methanolischen Lösung von 200 mg Bisdes-oxydihydromonotropein getropft. Das Reaktionsgemisch wurde sofort dünnschichtchromatographisch untersucht im Laufmittel Chloroform/Methanol (85:15). Es zeigte sich, dass eine vollständige Methylierung stattgefunden hatte. Das Laufmittel Benzol/Azeton (7:3) zeigte, dass das Methylierungsprodukt aus zwei Substanzen bestand. Dieses Laufmittelgemisch konnte

auch für die präparative Schichtchromatographie verwendet werden (s. B.2.) .Aus Tetrahydrofuran Hexan kristallisierten 150 mg Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester vom Schmelzpunkt 157° bis 157,5° .

Elementaranalyse :

$C_{17}H_{26}O_9$ (374) Ber.: C 54,54 H 7,00
Gef.: C 54,73 H 6,89

$[\alpha]_D^{20°} = -90°$ (c = 0,295 ; Äthanol)

UV-Spektrum : $\lambda_{max.}^{CH_3OH}$ 236 nm (ε = 10710)

IR-Spektrum : Die Absorptionsbanden liegen bei folgenden Wellenzahlen :
$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2940 w, 2920 m, 2870 w, 1710 s, 1690 (Schulter) w, 1640 s, 1635 (Schulter), 1435 m, 1380 w, 1285 s, 1180 w, 1155 m, 1000 - 1100 s, 950 w, 930 w, 900 m, 860 w, 795 w, 770 m .

s=starke, m=mittelstarke, w=schwache Bande

c = 1,12 mg P_B / 150 mg KBr

NMR-Spektrum : Die Angaben beziehen sich auf δ (ppm)

chem. Verschiebung	Aufspaltung	Anzahl Protonen
7,4	d (J=1)	1 H
5,4	d (J=4,5)	1 H

NMR-Spektrum der Verbindung P_B Fortsetzung :

chem. Verschiebung	Aufspaltung	Anzahl Protonen
3,72	s	3 H
1,1	d (J=6)	3 H

s = Singulett; d = Dublett; m = Multiplett

J = Kopplungskonstante (in Herz)

Massen-Spektrum : m/e 374 (M), 356, 343, 252, 226, 212 (M^*), 194, 182, 162, 152, 139, 81, 73, 71 .

M = Molekülion ; M^* = Aglykonmolekülion

2.1.2. Acetylierung des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters

50 mg Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester werden in 2 ml Pyridin gelöst und mit 2 ml wasserfreiem Essigsäureanhydrid versetzt. Die Lösung bleibt 24 Stunden stehen und wird dann auf etwa 20 ml Eis gegossen und zum langsamen Auftauen vier Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Das Acetat kann dann mit Äther ausgeschüttelt werden; die ätherische Lösung wird solange mit 0,1 n Salzsäure geschüttelt, bis der wässrige Auslauf sauer reagiert. Nun wird die ätherische Lösung solange mit Natriumbikarbonatlösung (10 %) geschüttelt, bis der wässrige Auslauf

schwach alkalisch reagiert. Nach dem Trocknen über getrocknetem Natriumsulfat wird die ätherische Lösung eingedampft. Nach dem Umkristallisieren aus Tetrahydrofuran/Hexan verblieben 40 mg Bisdesoxy-dihydromonotropeinmethylestertetraacetat vom Schmelzpunkt 100° bis 102° .

UV-Spektrum : $\lambda_{max.}^{CH_3OH}$ 236 nm (ε = 11580)

IR-Spektrum : Die Absorptionsbanden liegen bei folgenden Wellenzahlen :
$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2940 m, 2920 m, 2880 w, 2840 w, 1740 - 1750 s, 1700 (Schulter) m, 1690 s, 1630 m, 1430 m, 1370 s, 1200 - 1250 s, 1180 m, 1155 w, 1000 - 1100 s, 980 w, 955 w, 902 w, 870 w, 860 w, 810 w, 770 w .

s=starke, m=mittelstarke, w=schwache Bande

c = 1,9 mg P_C / 200 mg KBr

NMR-Spektrum : Die Angaben der chemischen Verschiebung beziehen sich auf δ (ppm)

chem. Verschiebung	Aufspaltung	Anzahl Protonen
7,3	d (J=1)	1 H
4,8 - 5,4	m	5 H
4,2	m	2 H

NMR-Spektrum der Verbindung P_C Fortsetzung :

chem. Verschiebung	Aufspaltung	Anzahl Protonen
3,8	m	1 H
3,7	s	3 H
2,1	s	3 H
2,02	s	3 H
1,99	s	3 H
1,9	s	3 H
1,1 - 3,3	m	7 H
1,1	d (J=6,5)	3 H

s = Singulett ; d = Dublett ; m = Multiplett

J = Kopplungskonstante (in Herz)

Massen-Spektrum : m/e 542 (M), 511, 483, 467, 417, 331, 271, 229, 212 (M^*), 211, 195, 169, 163, 139, 127, 109, 103, 97, 81 .

M = Molekülion ; M^* = Molekülion (Aglykon)

3. Isolierung und Charakterisierung der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F -

Die in A.2.3.1. erhaltenen Methylprodukte (Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester und eine unbekannte Verbindung P_E) lassen sich durch präparative Schichtchromatographie im Laufmittel Benzol/Azeton (7:3) gut trennen. (s. B.2.) Die unbekannte Verbindung P_D lässt sich jedoch weder als Methylester (P_E) noch als Methylestertetraacetat (P_F) kristallisieren. Folgende analytische Werte konnten mit dem weissen, amorphen Pulver erlangt werden :

Verbindung P_E :

IR-Spektrum : Die Absorptionsbanden liegen bei folgenden Wellenzahlen :
$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2940 m, 2920 m, 2870 w, 2850 w, 1705 s, 1690 (Schulter) s, 1435 m, 1380 w, 1290 s, 1185 m, 1155 m, 1000 - 1100 s, 950 w, 930 w, 900 w, 860 w, 765 w .

s=starke, m=mittelstarke, w=schwache Bande

c = 1,17 mg P_E / 200 mg KBr

Massen-Spektrum : m/e 227 (M^*), 210, 194, 179, 171, 167, 145, 139, 127, 109, 103, 97, 85, 81, 71 .

M^* = Molekülion (Aglykon)

Verbindung P_F :

Massen-Spektrum : m/e 558 (M), 540, 527, 331, 271, 229, 211, 210, 179, 169, 145, 139, 127, 109, 103, 84 .

M = Molekülion

4. Enzymatische Hydrolyse des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters

5 mg Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester werden in 2 ml Wasser gelöst und mit einem Phosphatpuffer auf pH 5 gebracht.Dazu gibt man eine Spatelspitze frische Cellulase (Firma Serva) und lässt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.
Die wässrige Lösung wird dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt.Zur Abtrennung der Phosphatpufferionen wird die wässrige Lösung über einen Mischbettaustauscher (Serdolite MB) gegeben.Das Eluat wird papierchromatographisch mit verschiedenen Zuckern verglichen (s. Tabelle 20).Die Flecke wurden durch Besprühen mit einer Lösung von 0,93 g Anilin und 1,66 g Phthalsäure in 100 ml wassergesättigtem n-Butanol und anschliessendes Erhitzen des Chromatogramms auf 105° sichtbar gemacht.

	Rf-Werte im Laufmittel I	Rf-Werte im Laufmittel II
Zucker der Verbindung P_B	0,37	0,32
Mannose	0,42	0,35
Glucose	0,37	0,32
Galaktose	0,32	0,29

Tab. 20

3. Isolierung und Charakterisierung der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F -

Die in A.2.3.1. erhaltenen Methylprodukte (Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester und eine unbekannte Verbindung P_E) lassen sich durch präparative Schichtchromatographie im Laufmittel Benzol/Azeton (7:3) gut trennen. (s. B.2.) Die unbekannte Verbindung P_D lässt sich jedoch weder als Methylester (P_E) noch als Methylestertetraacetat (P_F) kristallisieren. Folgende analytische Werte konnten mit dem weissen, amorphen Pulver erlangt werden :

Verbindung P_E :

IR-Spektrum : Die Absorptionsbanden liegen bei folgenden Wellenzahlen :
$\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) 2940 m, 2920 m, 2870 w, 2850 w, 1705 s, 1690 (Schulter) s, 1435 m, 1380 w, 1290 s, 1185 m, 1155 m, 1000 - 1100 s, 950 w, 930 w, 900 w, 860 w, 765 w .

s=starke, m=mittelstarke, w=schwache Bande

c = 1,17 mg P_E / 200 mg KBr

Massen-Spektrum : m/e 227 (M^*), 210, 194, 179, 171, 167, 145, 139, 127, 109, 103, 97, 85, 81, 71 .

M^* = Molekülion (Aglykon)

Verbindung P_F :

Massen-Spektrum : m/e 558 (M), 540, 527, 331, 271, 229, 211, 210, 179, 169, 145, 139, 127, 109, 103, 84 .

M = Molekülion

4. Enzymatische Hydrolyse des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters

5 mg Bisdesoxydihydromonotropeinmethylester werden in 2 ml Wasser gelöst und mit einem Phosphatpuffer auf pH 5 gebracht.Dazu gibt man eine Spatelspitze frische Cellulase (Firma Serva) und lässt 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen.
Die wässrige Lösung wird dreimal mit Chloroform ausgeschüttelt.Zur Abtrennung der Phosphatpufferionen wird die wässrige Lösung über einen Mischbettaustauscher (Serdolite MB) gegeben.Das Eluat wird papierchromatographisch mit verschiedenen Zuckern verglichen (s. Tabelle 20).Die Flecke wurden durch Besprühen mit einer Lösung von 0,93 g Anilin und 1,66 g Phthalsäure in 100 ml wassergesättigtem n-Butanol und anschliessendes Erhitzen des Chromatogramms auf 105° sichtbar gemacht.

	Rf-Werte im Laufmittel I	Rf-Werte im Laufmittel II
Zucker der Verbindung P_B	0,37	0,32
Mannose	0,42	0,35
Glucose	0,37	0,32
Galaktose	0,32	0,29

Tab. 20

Tabelle 20 Fortsetzung :

Laufmittel I : n-Butanol/Pyridin/Wasser 6:4:3
Laufmittel II : n-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:5

Die Rf-Werte des bei der Hydrolyse des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters abgespaltenen Zuckers stimmten in beiden Laufmitteln genau mit denen der mitlaufenden authentischen Glucose überein (s. Tabelle 20).
Der Zuckerbestandteil der Verbindung P_A (Bisdesoxydihydromonotropein) und seiner Derivate P_B und P_C ist:

Glucose .

5. Enzymatische Hydrolyse der Verbindung P_E –

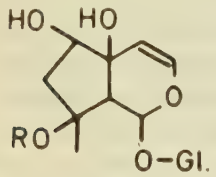
Die enzymatische Hydrolyse der Verbindung P_E erfolgte nach dergleichen Methode wie die des Bisdesoxydihydromonotropeinmethylesters (s. B.4.) .Die Vergleichssubstanzen, Laufmittel und Sprühreagenzien wurden nicht verändert.Die Rf-Werte der Papierchromatogramme zeigten keine Unterschiede zu den in Tabelle 20 beschriebenen.Der Zuckerbestandteil der Verbindung P_D und seiner Derivate P_E und P_F ist:

Glucose .

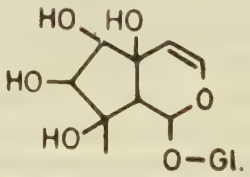
VI. Diskussion

Die Isolierung des Bisdesoxydihydromonotropeins aus einer Labiate ist in chemotaxonomischer Hinsicht interessant. Bisher sind in dieser Familie noch keine Iridoide nachgewiesen worden, die am C-Atom C-4 eine Carboxyl- oder Carboxymethylgruppe tragen. Die meisten bisher untersuchten Arten [1,89] enthalten Verbindungen vom Typ des Harpagids [63,64,75,85,86,72], dessen Aglykon am C-Atom C-4 keinen Substituenten trägt. In einer kleineren Zahl von Arten, besonders in der Gattung Lamium, kommen Iridoide vom Typ des Lamiols [1,73] vor, dessen Aglykon am C-Atom C-4 eine Methylgruppe aufweist.

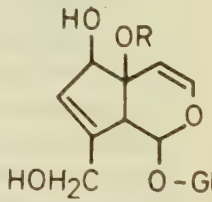
C-9 Iridoide vom Typ des Harpagids :



HARPAGID (R = H)
ACETYLHARPAGID (R = Ac.)
HARPAGOSID (R = cinnamoyl)

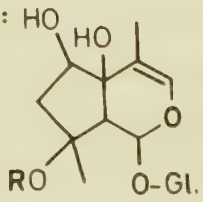


PROCUMBID



MELITTOSID (R = G
MONOMELITTOSID
(R = H)

C-10 Iridoide vom Typ des Lamiols :



LAMIOL (R=H)
LAMIOSID
(R = Ac)

Abb. 30

Bisdesoxydihydromonotropein stellt also einen dritten Strukturtyp dar und es wäre sicher interessant, auch die Verbreitung dieses Typs innerhalb der Familie kennenzulernen.

VII. Zusammenfassung

Zwei saure Iridoide wurden in den Blättern und Wurzeln zweier Physostegia virginiana Varietäten (Physostegia virginiana (L.) Benth. var. virginiana und var. speciosa (Sweet) Gray) gefunden.Eins konnte kristallin erhalten werden und durch direkten Vergleich des Methylesters mit authentischer Substanz als Bisdesoxydihydromonotropein identifiziert werden.Diese Verbindung ist bisher nur in Form seiner Derivate bekannt.

Die zweite, ebenfalls saure Substanz lässt sich nicht kristallisieren.An Hand der spektroskopischen Ergebnisse wird für dieses Iridoid die Formel eines Hydroxy - Bisdesoxydihydromonotropeins vorgeschlagen.Dabei ist die Stellung der Hydroxylfunktion im Cyclopentanring noch ungewiss.

VIII. Literaturverzeichnis

1. F. ADEMA : Acta Bot. Nederl. 17 (5), 425 (Oct. 1968)
2. G. ALBERS-SCHÖNBERG, H. SCHMID : Helv. Chim. Act. 44 (2), 1447 (1961)
3. A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, R.S. KAPIL, A.O. PLUNKETT und I.B. TAYLOR : Chem. Comm. 46 , (1966)
4. A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, J.A. KNIGHT, J.A. MARTIN und A.O. PLUNKETT : Chem. Comm. 346 , (1966)
5. A.R. BATTERSBY, R.T. BROWN, R.S. KAPIL, J.A. KNIGHT, J.A. MARTIN und A.O. PLUNKETT : Chem. Comm. 888 , (1966)
6. A.R. BATTERSBY, R.T.BROWN, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN und A.O. PLUNKETT : Chem. Comm. 890 , (1966)
7. A.R. BATTERSBY, J.C. BYRNE, H. GREGORY und S.P. POPLI : J. Chem. Soc. 813 , (1967)
8. A.R. BATTERSBY, R.S. KAPIL und R. SOUTHGATE : Chem. Comm. 131 , (1968)
9. A.R. BATTERSBY, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN und L.MO : Chem. Comm. 133 , (1968)
10. A.R. BATTERSBY,B. GREGORY : Chem. Comm. 134 , (1968)
11. A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT, G.D. KNOWLES und P.G. PARSONS : Chem. Comm. 1277 , (1968)
12. A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT und P.G. PARSONS : Chem. Comm. 1280 , (1968)
13. A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT, P.G. PARSONS : Chem. Comm. 1282 , (1968)

14. A.R. BATTERSBY, J.C. BYRNE, R.S. KAPIL, J.A. MARTIN und T.G. PAYNE : Chem. Comm. 951 , (1968)

15. A.R. BATTERSBY, E.S. HALL und R. SOUTHGATE : J. Chem. Soc. 721 , (1969)

16. A.R. BATTERSBY, A.R. BURNETT und P.G. PARSONS : J.Chem. Soc. 1187 , (1969)

17. G. BENTHAM und J.D. HOOKER : Genera Plantarum 2 ,1204 (1876)

18. T.W. BENTLEY, R.A.W. JOHNSTONE : J. Chem. Soc. (C),2234 (1967)

19. A.J. BIRCH und J. GRIMSHAW : J. Chem. Soc. 1407 , (1961)

20. B. BOIVIN : Natural. Can. 93 (5) , 571 (1966)

21. J.M. BOBITT, D.W. SPIGGLE, S. MAHBOOB, H.SCHMID und W. v. PHILIPSBORN : J.Chem. Soc. 31 , 500 (1966)

22. J.M. BOBITT, K.V. RAO und D.E. KIELY : Lloydia 29 (2),(1966)

23. J.M. BOBITT und D.E. KIELY : J. Chem. Soc. 32 , 1459 (1967)

24. S. BRECHBÜHLER-BADER, C.J. COSCIA, P.LOEW, CHR. v. SZCZEPANSKI und D.ARIGONI : Chem. Comm. 136 , (1968)

25. L.H. BRIGGS, B.F. CAIN : J. Chem. Soc. 4182 , (1954)

26. L.H. BRIGGS, B.F. CAIN und P.W. LE QUESNE : Tetrahedron Letters 2 , 69 (1963)

27. L.H. BRIGGS, B.F. CAIN, P.W. LE QUESNE und J.N. SHOOLERY : J. Chem. Soc. 2595 (1965) und Referenzen darin

28. G. BÜCHI : Tetrahedron Letters 26 , 5 (1960)

29. G. BÜCHI, R.E. MANNING : Tetrahedron 18 , 1049 (1962)

30. F. MC CAPRA, T. MONEY, A.I. SCOTT und I.G. WRIGHT : Chem. Comm. 537 , (1965)

31. C.J. COSCIA und R. GUARNACCIA : J. Amer. Chem. Soc. 89 , 1280 (1967)

32. C.J. COSCIA und R. GUARNACCIA : Chem. Comm. 138 , (1968)

33. C. DJERASSI, T. NAKANO, A.N. JAMES, L.H. ZALKOW, E.J. EISENBRAUN und J.N. SHOOLERY : J. Org. Chem. 26, 1192 (1961)

34. P. A. FINAN, R.I. REED, W. SNEDDEN und J.M. WILSON : J. Chem. Soc. 5945 (1963)

35. T.A. GEISSMANN und W.F. KNAACK Jr. : Tetrahedron Letters 12 , 1245 (1966)

36. H.A. GLEASON : New Britton and Brown Flora of the North-eastern US 3 , 154 (1954)

37. H.A. GLEASON : Manual of vascular Plants of the North-eastern US and Canada 590 , (1963)

38. H. GOEGGEL und D. ARIGONI : Chem. Comm. 538 , (1965)

39. GRAY'S Manual of Botany , 8th edition , 1226 (1950)

40. J. GRIMSHAW : Chem. und Ind. 403 , (1961)

41. D. GRÖGER und P. SIMCHEN : Die Pharmazie 22 , 315 (1967)

42. W. HAEGELE, F. KAPLAN und H. SCHMID : Tetrahedron Letters 3 , 110 (1961)

43. R. HÄNSEL : Deutsche Apotheker Zeitung 106 , 1761 (1966)

44. E.S. HALL, F. MC CAPRA, T. MONEY : Chem. Comm. 348, (1966)

45. R. HEGENAUER : Pharm. Act. Helv. 41 , 577 (1966)

46. G. HEGI : Illustrierte Flora von Mittel-Europa 5 (4) , 2472 (1931)

47. K. HEYNS und D. MÜLLER : Tetrahedron Letters 48 , 6061 (196

48. J.E.S. HÜNI, H. HILTEBRAND, H. SCHMID, D. GRÖGER, S. JOHNE und K. MOTHES : Experientia 22 , 656 (1966)

49. H. INOUYE, T. ARAI, Y. MIYOSHI und Y. YOAI : Tetrahedron Letters 16 , 1031 (1963)

50. H. INOUYE, T.ARAI, Y. MIYOSHI : Chem. Pharm. Bull. 12 (8) , 888 (1964)

51. H. INOUYE, K. FUJI : Chem. Pharm. Bull. 12 (8),901 (1964)

52. H. INOUYE und T. ARAI : Chem Pharm.Bull. 12 (8),968 (1964)

53. H. INOUYE, S. UEDA, M. HIRABAYASHI und N. SHIMOKANA : Yakugaku Zasshi 86 (10) , 943 (1966)

54. H. INOUYE, S. UEDA und Y. NAKAMURA : Tetrahedron Letters 3221 (1967)

55. H. INOUYE und T. ARAI : Chem. Pharm.Bull. 16 (6),1019 (1968)

56. H. INOUYE, S. INOUYE, N. SHIMOKAWA und M. OKIGAWA : Tetrahedron Letters 6 , 683 (1968)

57. H. INOUYE, T. YOSHIDA und S. TOBITA : Tetrahedron Letters 25 , 2945 (1968)

58. H. INOUYE, S. UEDA und Y. TAKUDA : Tetrahedron Letters 3453 (1968)

59. W.A. JENKINS : Phytopath. 35 (5) , 324 (1945)

60. P. KARLSON : Kurzes Lehrbuch der Biochemie (1964)

61. E. LEETE und S. GHOSAL : Tetrahedron Letters 1179 (1962)

62. E. LEETE und S. UEDA : Tetrahedron Letters 40 , 4912 (1966)

63. H. LICHTI und A.v. WARTBURG : Helv. Chim. Act. 49 (5) , 1552 (1966)

64. P. LOEW, H. GOEGGEL und D. ARIGONI : Chem. Comm. 347,(1966)

65. P. LOEW, D. ARIGONI : Chem. Comm. 137 , (1968)

66. P. LOEW, CHR. v. SZCZEPANSKI, C.J. COSCIA und D. ARIGONI Chem. Comm. 1276 (1968)

67. J. MASAKI, M. HIRABAYASHI, K. FUJI, K. OSAKI und H. INOUYE Tetrahedron Letters 25 , 2367 (1967)

68. J. MEINWALD, G.M. HAPP, J. LABOWS und T. EISNER : Science 151 , 79 (1966)

69. T. MONEY, I.G. WRIGHT, F. MC CAPRA, E.S. HALL und A.I. SCOTT : J. Amer. Chem. Soc. 90,4144 (1968)

70. L.MÜLLER : Zeitschrift Wiss. Biol. Abt. E , Planta 18 (4) , 651 (1933)

71. F. E. REGNIER, E.J. EISENBRAUN, G.R. WALLER und H. ANDA : Abstr. 150th Natl. Meeting Atlantic City , Sept. 1965 Am. Chem. Soc. 116 C ; Referiert in J.E.S. HÜNI, H. HILTEBRAND, H. SCHMID, D. GRÖGER, S. JOHNE und K. MOTHES : Experientia 22 , 656 (1966)

72. M.L. SCARPATI, M. GUISO und L. PANIZZI : Tetrahedron Letters 39 , 3439 (1965)

73. M.L. SCARPATI : Ric. Sci. 37 (2) , 115 (1967)

74. M.L. SCARPATI und P. ESPOSITO : Ric. Sci. 37 , 840 (1967)

75. M.L. SCARPATI und P. ESPOSITO : Gazz. Chim. Ital. 97,1209 (1967)

76. M.L. SCARPATI, M. GUISO und P. ESPOSITO : Gazz. Chim. Ital. 98 , 177 (1968)

77. K. SHETH, E. RAMSTAD und J. WOLINSKY : Tetrahedron Letters 12 , 394 (1961)

78. W. SIMON und T. CLERC : Strukturaufklärung organischer Verbindungen mit spektroskopischen Methoden (1967)

79. O. STICHER und H. SCHMID : Helv. Chim. Act. 52(2),478 (1969)

80. W.H. TALLENT : Tetrahedron 20 , 1781 (1964)

81. R.L TAYLOR und R.P. BROCKMANN : Can. I. Bot. 44(8),1093 (1966)

R. THOMAS : Tetrahedron Letters 544 , (1961)

U. TOSCO und G. ARISTELLO : Nuov. Giorn. Bot. Ital. 61 (4) , 704 (1954)

A.R. TRIMM und R. HILL : Biochem. J. 50 , 310 (1952)

P. TUNMANN und R. LUX : Deutsche Apotneker Zeitung 102 , 1274 (1962)

P. TUNMANN und H.E. HAMMER : Liebigs Ann. Chem. 712 , 138 (1968)

M.W. WENDT, W. HAEGELE, E. SIMONOITSCH und H. SCHMID : Helv. Chim. Act. 18 (5) , 1440 (1960)

E. WENKERT : J. Amer. Chem. Soc. 84 , 98 (1962)

J.H. WIEFFERING : Phytochemistry 5 , 1053 (1966)

D.H. WILLIAMS und I. FLEMING : Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie (1

E. WINDE : Agnosid, ein neues Pseudoindikan aus Vitex Agnus Castus L., Diss. FU Berlin, 1959

O.A. YEOWELL und H. SCHMID : Experientia 20 , 250 (1964)

Druck:

DISSERTATIONSDRUCKSTELLE
der Ernst-Reuter-Gesellschaft
der Förderer und Freunde
der Freien Universität Berlin e. V.
Pächter: Franz Augustin
1 Berlin 33, Garystr. 45